



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE  
MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA



# **Evaluación del potencial como promotoras de crecimiento en plantas bajo estrés salino de *Bacillus* spp. con actividad ACC desaminasa**

## **TESIS**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADA EN  
BIOLOGÍA MICROBIOLOGÍA - PARASITOLOGÍA

## **AUTORAS:**

Bach. Dogminiq Yenifer García Flores

Bach. Karen Massiell Moreno Chinchay

## **ASESOR:**

Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán

**LAMBAYEQUE - PERÚ**

**2020**

**Evaluación del potencial como promotoras de  
crecimiento en plantas bajo estrés salino de  
*Bacillus* spp. con actividad ACC desaminasa**

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA  
MICROBIOLOGÍA - PARASITOLOGÍA

**APROBADA POR:**

Dra. Graciela Albino Cornejo

\_\_\_\_\_

**PRESIDENTE**

Dra. Gianina Llontop Barandiaran

\_\_\_\_\_

**SECRETARIA**

MSc. Consuelo Rojas Idrogo

\_\_\_\_\_

**VOCAL**

Dra. Carmen Carreño Farfán

\_\_\_\_\_

**ASESORA**

LAMBAYEQUE, PERÚ

2020

## **DEDICATORIA:**

Dedico con todo mi corazón  
este proyecto a mis padres:

Zoila Flores Pérez y Jaime  
García Ramírez por su apoyo  
incondicional en todo el  
camino de mi vida, pues aún  
sin nacer ustedes me  
ofrecieron lo mejor y son el  
principal cimiento para la  
construcción de mi vida  
profesional y mostrarme el  
camino a la superación, los  
amo.

Mis hermanos Norka y Franco  
que siempre estuvieron de la  
mano de mis padres  
abrazando mis pasos,  
sufriendo mis luchas y  
celebrando mis triunfos.

Esto es posible gracias a  
ustedes.

*Dominig Yennifer García Flores*

## **DEDICATORIA:**

Esta tesis está dedicada con  
todo cariño y amor:

A Dios, por darme vida, salud y  
sabiduría a lo largo de este  
camino y sobre todo porque  
nos diste paciencia para  
entender que entre las  
adversidades se puede  
florecer.

A mis padres, Jorge Moreno y  
Corina Chinchay, quienes han  
sido y son mi motor y motivo  
de ser siempre mejor como  
persona y profesional y que  
con su ejemplo de  
perseverancia, responsabilidad  
y esfuerzo puedo cumplir hoy  
una de mis metas más  
anheladas.

A mi hermana Carmela, por el  
apoyo diario y la paciencia,  
con la que me acompaño en  
esta etapa de mi vida.

A Victor Acosta, por su amor,  
apoyo incondicional y el aliento  
de cada día ser mejor y darme  
seguridad de que todo lo  
puedo lograr.

Sin ustedes nada de esto sería  
posible, muchas gracias, los  
amo

*Karen Massiell Moreno Chinchay*

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Dra. Carmen Carreño Farfán, docente de Microbiología de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo por su asesoría, amistad y apoyo en la realización del presente trabajo de investigación.

Gracias a nuestra familia, por su apoyo incondicional desde el inicio de nuestra formación en la carrera hasta el final de este pequeño paso que hoy se da, los amamos incondicionalmente

A nuestros amigos, los que estuvieron siempre allí, apoyándonos, y fueron partícipes de este proyecto, muchas gracias por su gran ayuda.

Y gracias a todas aquellas personas que sin interés alguno nos brindaron su apoyo en algunas de las etapas de la realización de esta tesis.

## Índice general

<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>II. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>3</b>
2.1. Antecedentes de la investigación .....	3
2.2. Base teórica .....	6
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>8</b>
3.1. Materiales .....	8
3.1.1. Material biológico.....	8
3.1.2. Población y muestra .....	8
3.2. Métodos .....	8
3.2.1. Variable de la fase descriptiva .....	8
3.2.2. Variables de la fase explicativa.....	8
3.2.3. Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis .....	9
3.2.4. Lugar de muestreo y obtención de muestras .....	9
3.2.5. Aislamiento de <i>Bacillus</i> spp. ....	13
3.2.6. Selección de <i>Bacillus</i> spp. con actividad ACC desaminasa y tolerancia de cloruro de sodio .....	13
3.2.7. Efecto de <i>Bacillus</i> spp. en la germinación de semillas de <i>Raphanus sativus</i> L. bajo estrés salino.....	17
3.2.8. Identificación en <i>Bacillus</i> spp. de las características que evidencian <i>in</i> <i>vitro</i> promoción de crecimiento vegetal.....	19
3.2.9. Efecto de <i>Bacillus</i> spp. en la emergencia y desarrollo de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelos sin y con estrés salino .....	22
3.2.10. Análisis estadístico de los datos .....	23
<b>IV. RESULTADOS.....</b>	<b>26</b>
4.1. Bacterias del género <i>Bacillus</i> aisladas e identificadas.....	26
4.2. <i>Bacillus</i> spp. con actividad ACC desaminasa y tolerancia al cloruro de sodio .....	26
4.3. Efecto de <i>Bacillus</i> spp. en la germinación de semillas de <i>Raphanus sativus</i> L. bajo estrés salino .....	26

4.4. Características que evidencian <i>in vitro</i> promoción de crecimiento vegetal en las especies de <i>Bacillus</i> con actividad ACC desaminasa .....	33
4.5. Efecto de tres cultivos de <i>Bacillus</i> en la emergencia y desarrollo de rabanito en suelos sin y con salinidad.....	33
4.5.1. Suelos sin salinidad .....	39
4.5.2. Suelos con salinidad .....	47
<b>V. DISCUSIÓN.....</b>	<b>55</b>
<b>VI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>59</b>
<b>VII. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>60</b>
<b>VIII. REFERENCIAS .....</b>	<b>61</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>72</b>

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Diseño completamente aleatorio para determinar el efecto de <i>Bacillus</i> spp. en <i>Raphanus sativus</i> L. ....	10
<b>Figura 2.</b> Distrito San José en Lambayeque, 2018 ( <a href="https://www.google.com/maps/@-6.7551488,-79.9077431,12.75z">https://www.google.com/maps/@-6.7551488,-79.9077431,12.75z</a> ).....	11
<b>Figura 3.</b> Ubicación del lugar de muestreo en el sector La Madrid de la Comunidad Campesina San José de Lambayeque, región Lambayeque, 2018. ( <a href="https://goo.gl/maps/23DzthWVvZnDmuDM9">https://goo.gl/maps/23DzthWVvZnDmuDM9</a> ). ....	11
<b>Figura 4.</b> Bosque en el sector La Madrid de la Comunidad Campesina San José, 2018. ....	12
<b>Figura 5.</b> Extracción de suelo para la obtención de raíces de <i>Prosopis limensis</i> Benth. en la Comunidad Campesina San José de Lambayeque, 2018. ....	15
<b>Figura 6.</b> Diluciones de suelo rizosférico en solución salina esterilizada, Lambayeque 2018.....	15
<b>Figura 7.</b> Tratamiento térmico de las diluciones del suelo rizosférico de <i>Prosopis limensis</i> Benth, Lambayeque 2018. ....	16
<b>Figura 8.</b> Inóculo de <i>Bacillus</i> spp. en medio mínimo Dworkin & Foster, Lambayeque 2019. ....	18
<b>Figura 9.</b> Prueba de germinación de semillas de <i>Raphanus sativus</i> L., Lambayeque 2019. ....	18
<b>Figura 10.</b> Semillas de <i>Raphanus sativus</i> L. inoculadas con <i>Bacillus</i> spp., Lambayeque 2019.....	20
<b>Figura 11.</b> Placas de Petri acondicionadas con semillas de <i>Raphanus sativus</i> L., Lambayeque 2019.....	20
<b>Figura 12.</b> Suelo experimental distribuido en macetas de arcilla, Lambayeque 2019. ....	24
<b>Figura 13.</b> Siembra de semillas de <i>Raphanus sativus</i> L., Lambayeque 2019. ....	24
<b>Figura 14.</b> Medición de la altura de <i>Raphanus sativus</i> L., Lambayeque 2019. ....	25
<b>Figura 15.</b> Pesaje de la biomasa aérea de <i>Raphanus sativus</i> L., Lambayeque 2019. ....	25
<b>Figura 16.</b> Observación microscópica (40x) de colonia circular con borde entero de <i>Bacillus</i> sp., Lambayeque 2019. ....	27



<b>Figura 17.</b> Observación microscópica (40x) de colonia circular con borde ondulado de <i>Bacillus</i> sp., Lambayeque 2019. ....	28
<b>Figura 18.</b> Observación microscópica (40x) de colonia irregular con borde ondulado de <i>Bacillus</i> sp., Lambayeque 2019.....	28
<b>Figura 19.</b> Observación microscópica (40x) de colonia irregular con borde ondulado, aspecto cremoso y elevación crateriforme de <i>Bacillus</i> sp., Lambayeque 2019.....	29
<b>Figura 20.</b> Observación microscópica (40x) de colonias irregulares con borde ondulado y elevación umbilicada de <i>Bacillus</i> spp., Lambayeque 2019. .	29
<b>Figura 21.</b> Observación microscópica (40x) de colonia circular con borde ondulado y elevación papilada de <i>Bacillus</i> sp., Lambayeque 2019. ....	30
<b>Figura 22.</b> <i>Bacillus</i> spp. cultivados en medio mínimo Dworkin & Foster, Lambayeque 2019.....	30
<b>Figura 23.</b> Turbidez por el crecimiento de <i>Bacillus</i> spp. 4, 17, 21, 27, 32, en medio mínimo Dworkin & Foster. ....	31
<b>Figura 24.</b> Germinación de semillas de <i>Raphanus sativus</i> L. bajo estrés salino: a) testigo sin NaCl, b) testigo con NaCl, c) <i>Bacillus</i> sp. 32, d) <i>Bacillus</i> sp. 21. ....	31
<b>Figura 25.</b> Caldo tripticasa soya cultivado con <i>Bacillus</i> spp., Lambayeque 2019.	35
<b>Figura 26.</b> Caldo National Botanical Research Institute's phosphate cultivado con <i>Bacillus</i> spp., Lambayeque 2019. ....	35
<b>Figura 27.</b> Coloración observada en la cuantificación de indoles., Lambayeque 2019. ....	36
<b>Figura 28.</b> Coloración observada en la cuantificación de fósforo soluble., Lambayeque 2019.....	36
<b>Figura 29.</b> Halos de solubilización en agar National Botanical Research Institute's phosphate producidos por <i>Bacillus</i> sp. 21., Lambayeque 2019. ....	37
<b>Figura 30.</b> Emergencia de semillas de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelos sin salinidad, (a) <i>Bacillus</i> sp.27 (b) testigo absoluto. ....	41
<b>Figura 31.</b> Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L., 15 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp. 21 en suelo sin salinidad. ....	41
<b>Figura 32.</b> Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L., 20 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. en suelo sin salinidad. ....	42

<b>Figura 33.</b> Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L., 25 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp. 21 en suelo sin salinidad. ....	42
<b>Figura 34.</b> Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L., 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp. 21 en suelo sin salinidad. ....	43
<b>Figura 35.</b> Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L., 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. en suelo sin salinidad. ....	43
<b>Figura 36.</b> Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L., 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp. 21. ....	45
<b>Figura 37.</b> Biomasa aérea de <i>Raphanus sativus</i> L., 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp.....	45
<b>Figura 38.</b> Raíces de <i>Raphanus sativus</i> L., 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp. 27. ....	46
<b>Figura 39.</b> Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L., 15 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp. 21 en suelo con salinidad. ....	50
<b>Figura 40.</b> Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L., 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp. 27 en suelo con salinidad. ....	51
<b>Figura 41.</b> Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L., 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp. 21 en suelo con salinidad. ....	51
<b>Figura 42.</b> Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L., 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp. 32 en suelo con salinidad. ....	52
<b>Figura 43.</b> Plantas de <i>Raphanus sativus</i> L., 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> sp. 21 en suelo con salinidad. ....	53

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Posición georeferencial de los puntos muestreados en las raíces <i>Prosopis limensis</i> Benth. en el sector La Madrid, Comunidad Campesina San José, Lambayeque, 2018 .....	14
<b>Tabla 2.</b> Frecuencia de morfotipos de <i>Bacillus</i> spp., según características de las colonias en agar nutritivo con 5% de NaCl, Lambayeque 2019 .....	27
<b>Tabla 3.</b> Porcentaje de germinación de semillas de <i>Raphanus sativus</i> L. bajo estrés salino por efecto de <i>Bacillus</i> spp., Lambayeque 2019 .....	32
<b>Tabla 4.</b> Tasa de germinación de semillas de <i>Raphanus sativus</i> L. bajo estrés salino por efecto de <i>Bacillus</i> spp., Lambayeque 2019 .....	34
<b>Tabla 5.</b> Índices de solubilización de fosfato, fósforo soluble e índoles producidos por <i>Bacillus</i> spp., Lambayeque 2019 .....	37
<b>Tabla 6.</b> Rango de valores en los parámetros del desarrollo de <i>Raphanus sativus</i> L. inoculados con <i>Bacillus</i> spp. en suelos sin y con salinidad .....	38
<b>Tabla 7.</b> Altura de plantas de <i>Raphanus sativus</i> L. por efecto de <i>Bacillus</i> spp. en suelo sin salinidad .....	40
<b>Tabla 8.</b> Índices de efectividad de <i>Bacillus</i> spp. en la altura de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo sin salinidad .....	40
<b>Tabla 9.</b> Índices de efectividad de <i>Bacillus</i> spp. en el número de hojas y peso de la biomasa aérea de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo sin salinidad .....	44
<b>Tabla 10.</b> Índices de efectividad de <i>Bacillus</i> spp. en el número y peso de raíces de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo sin salinidad .....	44
<b>Tabla 11.</b> Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los valores promedio de altura de <i>Raphanus sativus</i> L. a los 15, 20, 25 y 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. en un suelo no salino.....	47
<b>Tabla 12.</b> Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los valores promedio del número de hojas, biomasa aérea y peso de raíces de <i>Raphanus sativus</i> L. 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. en un suelo no salino.....	47
<b>Tabla 13.</b> Emergencia de plántulas de <i>Raphanus sativus</i> L. por efecto de <i>Bacillus</i> spp. en suelo con salinidad .....	49

<b>Tabla 14.</b> Altura de plantas de <i>Raphanus sativus</i> L. por efecto de <i>Bacillus</i> spp. en suelo con salinidad .....	49
<b>Tabla 15.</b> Índices de efectividad de <i>Bacillus</i> spp. en la altura de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo con salinidad .....	50
<b>Tabla 16.</b> Índices de efectividad de <i>Bacillus</i> spp. en el número de hojas y peso de la biomasa aérea de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo con salinidad .....	52
<b>Tabla 17.</b> Índices de efectividad de <i>Bacillus</i> spp. en el número y peso de raíces de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo con salinidad .....	53
<b>Tabla 18.</b> Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los valores promedio de altura de <i>Raphanus sativus</i> L. a los 15, 20, 25 y 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. en un suelo salino .....	54
<b>Tabla 19.</b> Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los valores promedio del número de hojas, biomasa aérea y peso de raíces de <i>Raphanus sativus</i> L. 30 días después de la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. en un suelo salino .....	54

## RESUMEN

La salinidad del suelo afecta en forma negativa el desarrollo de los cultivos agrícolas. En las raíces y suelo rizosférico de *Prosopis limensis* Benth. “algarrobo” se aislaron bacterias del género *Bacillus*, para determinar su potencial como promotoras de crecimiento en plantas bajo estrés salino. La actividad 1-aminociclopropano-1-ácido carboxilato (ACC) desaminasa se investigó en medio mínimo Dworkin & Foster (DF) con 3,0 mM de ACC como fuente de nitrógeno y la tolerancia al cloruro de sodio en caldo nutritivo suplementado con 5,0; 7,5 y 10% NaCl. Las bacterias con actividad 1-aminociclopropano-1-ácido carboxilato (ACC) desaminasa y tolerancia a 10% NaCl se inocularon en semillas de *Raphanus sativus* L. “rabanito” para determinar el efecto en el porcentaje y tasa de germinación bajo estrés salino (80 mM NaCl) y también se les investigó la producción de indoles y solubilización de fosfato tricálcico. A los tres cultivos de *Bacillus* spp. con los mayores valores se les determinó el efecto en la emergencia y desarrollo de rabanito en suelos sin y con salinidad. El 16,5% de *Bacillus* spp. demostró actividad 1-aminociclopropano-1-ácido carboxilato (ACC) desaminasa y todos estos bacilos toleraron 10% NaCl. La inoculación de *Bacillus* spp. incrementó el porcentaje y tasa de germinación de las semillas de rabanito en comparación con el testigo NaCl. Los cinco cultivos de *Bacillus* con la mayor y menor tasa de germinación de las semillas de rabanito produjeron indoles (48,24 – 66,13 ppm) y solubilizaron fosfato tricálcico (27,54 – 28,63 ppm) *in vitro*. Asimismo, *Bacillus* spp. promovieron el desarrollo de las plantas de rabanito sin y con estrés salino, alcanzándose índices de efectividad en la altura (46,18 – 158,82%), número de hojas (53,03%), biomasa aérea (60,75%) y biomasa radicular (173,46%) en el suelo con una CE de 8,23 dSm<sup>-1</sup>, evidenciándose su potencial como biofertilizantes en suelos salinos.

**Palabras clave:** *Bacillus* spp, 1-aminociclopropano-1-ácido carboxilato (ACC) desaminasa, estrés salino, *Raphanus sativus* L.

## ABSTRACT

Soil salinity negatively affects the development of agricultural crops. *Bacillus* bacterium were isolated from the roots and rhizospheric soil of *Prosopis limensis* Benth. "carob" to determine their potential as growth promoters in plants under salt stress. 1-aminocyclopropane-1-acid carboxylate (ACC) deaminase activity was investigated in Dworkin & Foster (DF) minimal medium with 3,0 mM of ACC as nitrogen source and tolerance to sodium chloride in nutrient broth supplemented with 5,0; 7,5 and 10% NaCl. Bacterium with 1-aminocyclopropane-1-acid carboxylate (ACC) deaminase activity and tolerance to 10% NaCl were inoculated into *Raphanus sativus* L. "radish" seeds to determine the effect on the percentage and germination rate under saline stress (80 mM NaCl) and the production was investigated of indoles and solubilization of tricalcium phosphate. To the three crops of *Bacillus* spp. with the highest values, the effect on radish emergence and development was determined in soils without and with salinity. 16,5% of *Bacillus* spp. Demonstrated 1-aminocyclopropane-1-acid carboxylate (ACC) deaminase activity and all of these bacilli tolerated 10% NaCl. Inoculation of *Bacillus* spp. increased the percentage and germination rate of radish seeds compared to the NaCl control. The five *Bacillus* cultures with the highest and lowest germination rate of radish seeds produced indoles (48,24 – 66,13 ppm) and solubilized tricalcium phosphate (27,54 – 28,63 ppm) *in vitro*. Likewise, *Bacillus* spp. promoted the development of radish plants without and with saline stress, reaching indices of effectiveness in height (46,18 – 158,82%), number of leaves (53,03%), aerial biomass (60,75%) and root biomass (173,46%) in the soil with an EC of 8,23 dSm<sup>-1</sup>, evidencing their potential as biofertilizers in saline soils.

**Keywords:** *Bacillus* spp, 1-aminocyclopropane-1-acid carboxylate (ACC) deaminase, saline stress, *Raphanus sativus* L.

## I. INTRODUCCIÓN

La salinidad o elevada concentración de sales en el suelo afecta significativamente el desarrollo de los cultivos agrícolas. Las sales disminuyen el potencial hídrico del suelo, dificultan la absorción del agua por las raíces (Saavedra, 2017) e inducen el estrés hídrico en las plantas. Asimismo, los iones sodio ( $\text{Na}^+$ ) y cloro ( $\text{Cl}^-$ ) en exceso causan toxicidad en la mayoría de las plantas cultivables (Mesa, 2003). Como consecuencia del estrés causado por la salinidad, se acelera en forma significativa la síntesis, liberación y difusión del etileno, se detiene la elongación de la raíz, se acelera la senescencia de flores, se promueve la abscisión de flores y frutos y la muerte de las plantas (Esquivel et al., 2013).

La producción endógena de etileno en las plantas puede ser reducida con productos químicos como la glicina aminoetoxivinilo y ácido aminooxiacético; sin embargo, su costo es elevado y son en potencia peligrosos para el ambiente (Ahmad et al., 2011). Por el contrario, las bacterias promotoras de crecimiento en plantas (PGPR) que incluyen especies de *Bacillus* (Tejera et al., 2011), con actividad de la enzima 1-aminociclopropano-1-ácido carboxilato (ACC) desaminasa hidrolizan el precursor del etileno: ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), con la consecuente disminución del nivel de etileno y reducción de la inhibición por efecto de la salinidad (Ahmad et al., 2011).

Los suelos afectados por la salinidad ( $\text{CE} > 4 \text{ dSm}^{-1}$ ), constituyen en promedio 900 millones de hectáreas, que representan el 6% de la tierra y 20% del suelo cultivable a nivel mundial (Chang et al., 2014). En la costa norte del Perú, la salinidad afecta el 40% de la superficie cultivable siendo más afectados Tumbes, Piura y Lambayeque (Soca et al., 2016). En la Comunidad Campesina San José de Lambayeque, se encuentran campos agrícolas que fueron abandonados por la excesiva salinidad (Santamaría, 2013); sin embargo, algunas especies como *Prosopis limensis* Benth. “algarrobo” se adaptaron y desarrollaron bajo estas

condiciones. La persistencia de estas plantas se debe a sus mecanismos de resistencia (Gonzales, 2007) y a la microbiota de la rizósfera con actividad ACC desaminasa (Saravanakumar y Samiyappan, 2007).

En la región Lambayeque no se han investigado las bacterias del género *Bacillus* con actividad ACC desaminasa y se desconoce su potencialidad en la promoción de crecimiento en las plantas desarrolladas en los suelos con salinidad característica de la zona. El aislamiento de microorganismos en suelos salinos posibilita la obtención de nuevas especies con capacidad para mejorar el desarrollo de las plantas en condiciones adversas.

Los resultados de la presente investigación validarán el uso de *Bacillus* spp. con actividad ACC desaminasa como biofertilizante en suelos con salinidad. En este contexto, se planteó la siguiente investigación cuyo problema fue: ¿Cuál es el potencial como promotoras de crecimiento en plantas sin y con estrés salino de *Bacillus* spp. con actividad ACC desaminasa? La hipótesis fue: *Bacillus* spp. con actividad ACC desaminasa y tolerantes al cloruro de sodio, producen indoles, solubilizan fosfatos y promueven la germinación y desarrollo de las plantas sin y con estrés salino.

El objetivo general fue: Determinar el potencial como promotoras de crecimiento en plantas sin y con estrés salino de *Bacillus* spp. con actividad ACC desaminasa. Los objetivos específicos fueron: Identificar el género *Bacillus* en los bacilos esporulados aislados de raíces y suelo rizosférico de *P. limensis* en la Comunidad Campesina de San José, región Lambayeque, seleccionar *Bacillus* spp. con actividad ACC desaminasa y tolerancia al cloruro de sodio, comparar el efecto de *Bacillus* spp. seleccionados en la germinación de semillas de *Raphanus sativus* L. “rabanito” bajo estrés salino, identificar las características que evidencian *in vitro* promoción de crecimiento vegetal en las bacterias del género *Bacillus* con mayor y menor efecto en la tasa de germinación de semillas de rabanito y comparar el efecto de tres cultivos de *Bacillus* spp. en la emergencia y desarrollo de rabanito sin y con estrés salino.



## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes de la investigación

En los nódulos radiculares y suelo rizosférico de *Vigna radiata* L. se aislaron rizobios y rizobacterias de vida libre con actividad ACC desaminasa, con el objetivo de determinar su efecto en el desarrollo de las plantas bajo estrés salino. Las bacterias se inocularon en las semillas y éstas se mantuvieron en condiciones controladas con dos niveles de salinidad: menos de 2,4 y 6 dSm<sup>-1</sup>. Después de 21 días las bacterias con actividad ACC desaminasa redujeron la inhibición por efecto de la salinidad, registrándose 45% de incremento en la longitud de la raíz con *Pseudomonas* y 134% en la biomasa fresca con *P. syringae*. Se demostró que estas bacterias pueden ser utilizadas para inducir tolerancia a la salinidad y favorecer el desarrollo de *V. radiata* en suelos con salinidad (Ahmad et al., 2011).

La eficiencia de bacterias halotolerantes para mejorar la tolerancia a las sales se investigó en *Capsicum annuum* L. "pimiento". Se cuantificó la actividad ACC y se evaluó la eficiencia de las bacterias para reducir la producción de etileno y promover el crecimiento en almácigos con 100, 150 y 250 mM NaCl. Se identificaron y seleccionaron *Brevibacterium iodinum*, *Bacillus licheniformis* y *Zhihenglinella alba*. La exposición a 100-200 mM NaCl incrementó en 44 y 74% la producción de etileno en las plántulas no inoculadas y se redujo en 44 y 57% en las plantas inoculadas. Con 150 mM NaCl las bacterias incrementaron la altura de planta, longitud de la raíz, biomasa aérea y radicular e índice de tolerancia a la salinidad. Se demostró que las bacterias con actividad ACC desaminasa pueden mitigar el estrés por salinidad en las plantas (Siddiquee et al., 2011).

Cuatro cultivos de rizobacterias aisladas de *Solanum esculentum* "tomate", se caracterizaron en sus propiedades bioquímicas relacionadas con la promoción del crecimiento vegetal y se investigó su efecto en el desarrollo de plántulas de tomate y *Capsicum annuum* "pimiento". Se realizó la identificación molecular, se

investigó la actividad ACC desaminasa y se determinó el efecto de la inoculación sobre la germinación y desarrollo de las plántulas por 30 días (tomate) y 60 días (pimiento) en condiciones de invernadero. La secuencia del gen 16 S ARNr identificó *Bacillus subtilis* (1), *B. megaterium* (2) y *Bacillus* sp. El 100% de cepas presentó actividad ACC desaminasa, producción de índoles y solubilización de fosfatos. Las bacterias incrementaron la germinación, altura, diámetro del tallo, peso de la biomasa fresca, seca aérea y radicular, destacando *B. subtilis* en tomate y pimiento. Esta cepa bacteriana presentó potencial para constituir un biofertilizante en los cultivos de tomate y pimiento (Luna et al., 2013).

El efecto de *Pseudomonas fluorescens* y *P. migulae* con actividad ACC desaminasa y sus mutantes sin actividad, se investigó en plántulas de tomate sin y con dos niveles de NaCl: 165 y 185 mM. Las bacterias se inocularon en las semillas y después de 15 horas a temperatura ambiente se cultivaron en macetas y se mantuvieron en condiciones de invernadero. A las 3 semanas las plantas se regaron con soluciones de 165, 185 y 0 mM de sales. Las bacterias con actividad ACC desaminasa promovieron el crecimiento de las plantas de tomate, alcanzando mayor peso de la biomasa, clorofila, menor contenido de sales en los tejidos y precocidad a la floración y fructificación con 165 y 185 mM de sales, en comparación con los mutantes. Se concluyó que la enzima ACC desaminasa es la responsable de la respuesta al estrés salino, diferente en las plantas de tomate inoculadas con las bacterias y sus mutantes (Ali et al., 2014).

Bacterias rizosféricas y endófitas se aislaron de *Eucalyptus nitens*, con el objetivo de determinar su capacidad de promover el crecimiento en las plántulas. Las bacterias se inocularon en las semillas a la siembra y 4 semanas después en la base de las plántulas emergidas. Los aislados con actividad PGPR se identificaron a nivel molecular. Se obtuvieron 15 aislados de bacterias, entre los que el 14,2% incrementó significativamente el crecimiento de plántulas de *E. nitens*, alcanzando 142% en la biomasa aérea, 135% en la biomasa radicular, 50% en la altura y 45% en la longitud de las raíces. Se identificaron *Arthrobacter*, *Lysinibacillus*, *Rahnella* y *Bacillus*. Todas las bacterias produjeron índoles, el 40% solubilizó fosfato y el 6,6% presentó actividad ACC desaminasa. Los resultados evidenciaron el potencial de las bacterias como promotoras de crecimiento y su posible uso como biofertilizantes (Angulo et al., 2014).

El potencial como promotores de crecimiento de bacterias endófitas con actividad ACC desaminasa se investigó con *Limonium sinense* (Girad) Kuntze. A las bacterias aisladas se les investigó la producción de índoles, fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato, tolerancia a la salinidad, se identificaron a nivel molecular y se determinó el efecto en la germinación de semillas y desarrollo vegetativo bajo condiciones de estrés salino. Se obtuvieron 126 aislados de bacterias. En el 13,3% se detectó actividad ACC desaminasa y entre éstas, 3,96% produjo índoles; 4,7% fijó nitrógeno; 3,17% solubilizó fosfato y toleraron 10% NaCl, identificándose *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Streptomyces*, *Isoptericola*, *Serratia* y *Microbacterium*. Estas bacterias incrementaron la longitud de la raíz, altura de planta, número de hojas, área foliar de las plantas desarrolladas con 100 a 250 nmol<sup>-1</sup> NaCl, demostrando efectividad en la protección de las plantas bajo estrés salino (Qin et al., 2014).

El potencial de 18 cepas de bacterias halófilas y halotolerantes para promover el crecimiento de plántulas se investigó en *Triticum aestivum*. Las ocho cepas bacterianas con mayor potencial *in vitro* se inocularon en las semillas y se mantuvieron en medio Hoagland en 50, 100, 200 y 400 mM de NaCl en un primer ensayo y 200 mM de NaCl en el segundo ensayo. El 44% de las bacterias produjo AIA y el 33% amonio, el 28% fijó nitrógeno, el 55% solubilizó fosfato y el 66% presentó actividad ACC desaminasa. Se seleccionaron *Bacillus* sp., *Zhihengliuella* sp., *Staphylococcus succinus*, *B. gibsonii*, *Oceanobacillus* sp, *Halomonas* sp. y *Thalassolacillus* sp. El NaCl disminuyó 10-80% el peso de la biomasa y las bacterias incrementaron significativamente la tasa de crecimiento (62-78%) de *T. aestivum* demostrándose el potencial de las bacterias para incrementar el desarrollo de *T. aestivum* bajo el estrés salino (Orhan, 2016).

El efecto de rizobacterias halotolerantes se investigó en *Beta vulgaris* L. “betarraga” bajo estrés salino. Las bacterias se caracterizaron y se determinó el efecto de la inoculación en la germinación y desarrollo de “beterraga” a 50, 75, 100, 125 y 150 mM NaCl. Se obtuvieron 23 aislados de bacterias con actividad ACC desaminasa entre los que fue el 43,4% produjo índoles; el 47,8% solubilizó fosfato, 39,1% produjo sideróforos y el 100% toleró hasta 0,34 M NaCl. *Micrococcus yunnanensis*, *Planococcus rifietoensis* y *Variovorax paradoxus* incrementaron significativamente la germinación de las semillas a 50-125 Mm NaCl. A las 4

semanas estas bacterias incrementaron el desarrollo vegetativo alcanzando 21-24% en la altura, 91-98% en la biomasa aérea y 33-42% la biomasa radicular con 125 mM NaCl. Se demostró que las bacterias productoras de ACC desaminasa promueven el crecimiento de betarraga bajo estrés salino (Zhou et al., 2017).

## 2.2. Base teórica

La salinidad del suelo es resultado de la acumulación de sales en la superficie debido al movimiento de las aguas freáticas hacia ella (Barkla et al., 2017). La salinidad se determina con la conductividad eléctrica (CE) o concentración total de sales que se encuentran en la solución del suelo, expresada como extracto de saturación del suelo (Mesa, 2003). El estrés salino es consecuencia de la elevada concentración de sales en el suelo. Como consecuencia, la presión osmótica en el suelo es menor que la de la planta y el agua sale de la planta hacia el suelo, causando deshidratación de forma similar al estrés causado por la sequía. El exceso de sodio dificulta la absorción y movimiento de calcio y potasio al interior de la planta con alteraciones metabólicas, así como también el sodio y cloro tienen efectos tóxicos en las membranas y sistemas enzimáticos (Parra, 2012).

Las bacterias que benefician a las plantas pueden vivir libres en el suelo, cerca o dentro de los tejidos vegetales y cuando tienen efecto benéfico en las plantas se les denomina rizobacterias promotoras de crecimiento o plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR (Palacio et al., 2016). Las PGPR presentan mecanismos como la fijación de nitrógeno, síntesis de auxinas, giberelinas, citocinas, vitaminas y enzimas (Saleem et al., 2007), solubilización de fósforo inorgánico (Penrose y Glick, 2003) y actividad de la enzima ACC (Esquivel et al., 2013).

Las bacterias con actividad ACC desaminasa regulan la concentración de etileno producido por la mayoría de las plantas en condiciones desfavorables y, como consecuencia, disminuyen en parte el estrés inducido por esta fitohormona y promueven el crecimiento de las plantas (Saleem et al., 2007). El estrés es el conjunto de respuestas bioquímicas o fisiológicas que definen un estado particular del organismo diferente al observado bajo condiciones óptimas (Basurto et al., 2008). Bacterias de los géneros *Achromobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Methylobacterium*, *Rhizobium*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Paenibacillus*, *Variovorax*, entre otras incrementan en las plantas la

tolerancia al estrés por sequía, salinidad, altas temperaturas o metales pesados (Grover et al., 2011).

En el modelo planteado por Glick et al. (1998) y expuesto por Esquivel et al. (2013), las bacterias sintetizan y liberan ácido indol-3-acético (AIA). Este AIA exógeno junto con el AIA endógeno estimulan la proliferación y elongación celular o la actividad de la enzima ACC sintasa que convierte el S- adenosilmetionina, SAM, en ACC. La mayor parte del ACC es exudado por las raíces de las plantas y es hidrolizado por las bacterias con actividad ACC desaminasa hasta  $\alpha$ -cetobutirato ( $\alpha$ -CB) y amonio (Saleen et al., 2007). El amonio a su vez es utilizado por las plantas y bacterias rizosféricas como fuente de nitrógeno. Para mantener el equilibrio entre los niveles de ACC interno y externo, las plantas exudan más ACC a la rizósfera, con la consecuente disminución de la biosíntesis del etileno dentro de la planta (Esquivel et al., 2013).

El género *Bacillus* incluye especies caracterizadas como PGPR, porque producen indoles (Abeer et al., 2015), solubilizan fosfatos (Xu et al., 2013), fijan nitrógeno (Singh y Jha, 2016), producen sideróforos (Kumar et al., 2016), presentan actividad ACC desaminasa (Amna et al., 2019), inducen resistencia sistémica, RSI (Castro et al., 2019), son muy eficientes en el control de fitopatógenos (Minaxi et al., 2012) y promueven el desarrollo de los cultivos agrícolas (Zhou et al., 2017; Qin et al., 2014).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Materiales

##### 3.1.1. Material biológico

Raíces y suelo rizosférico de *Prosopis limensis* Benth. “algarrobo”, semillas de *Raphanus sativus* L. “rabanito”, var. Champion y bacterias del género *Bacillus* con actividad ACC desaminasa.

##### 3.1.2. Población y muestra

En la etapa descriptiva de la investigación, la población estuvo constituida por las raíces y suelo rizosférico de *Prosopis limensis* Benth. del distrito de San José en Lambayeque y se investigaron 54 muestras probabilísticas de raíces y suelo rizosférico (Anexo A), colectadas en diciembre de 2018. En la etapa explicativa de la investigación la población y muestra de estudio correspondió a 96 plantas de rabanito distribuidas en cuatro tratamientos y tres repeticiones bajo un diseño experimental completamente aleatorio (Hernández et al., 2014) en dos suelos no salino y salino.

#### 3.2. Métodos

##### 3.2.1. Variable de la fase descriptiva

Variables cuantitativas: Rango de tolerancia al NaCl, concentración de indoles y fósforo soluble, índice de solubilización de fosfato

##### 3.2.2. Variables de la fase explicativa

Variables independientes: Suelo no salino y salino

Tres cultivos de *Bacillus* spp. con actividad ACC desaminasa

Variable dependiente : Desarrollo de *Raphanus sativus* L.

### 3.2.3. Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis

La investigación se ejecutó en dos etapas, en la primera, descriptiva, la hipótesis se contrastó con el diseño de una Sola Casilla de Goode y Hatt y en la segunda etapa de la investigación explicativa con el diseño experimental completamente aleatorio DCA (Hernández et al., 2014). Se realizaron dos ensayos en suelos no salino y salino, cada uno con cuatro tratamientos, correspondientes a un testigo sin *Bacillus* sp. (T1) y tres cultivos de *Bacillus* spp. (T2 a T4). Cada tratamiento contó con tres repeticiones totalizando doce unidades experimentales por ensayo (Figura 1).

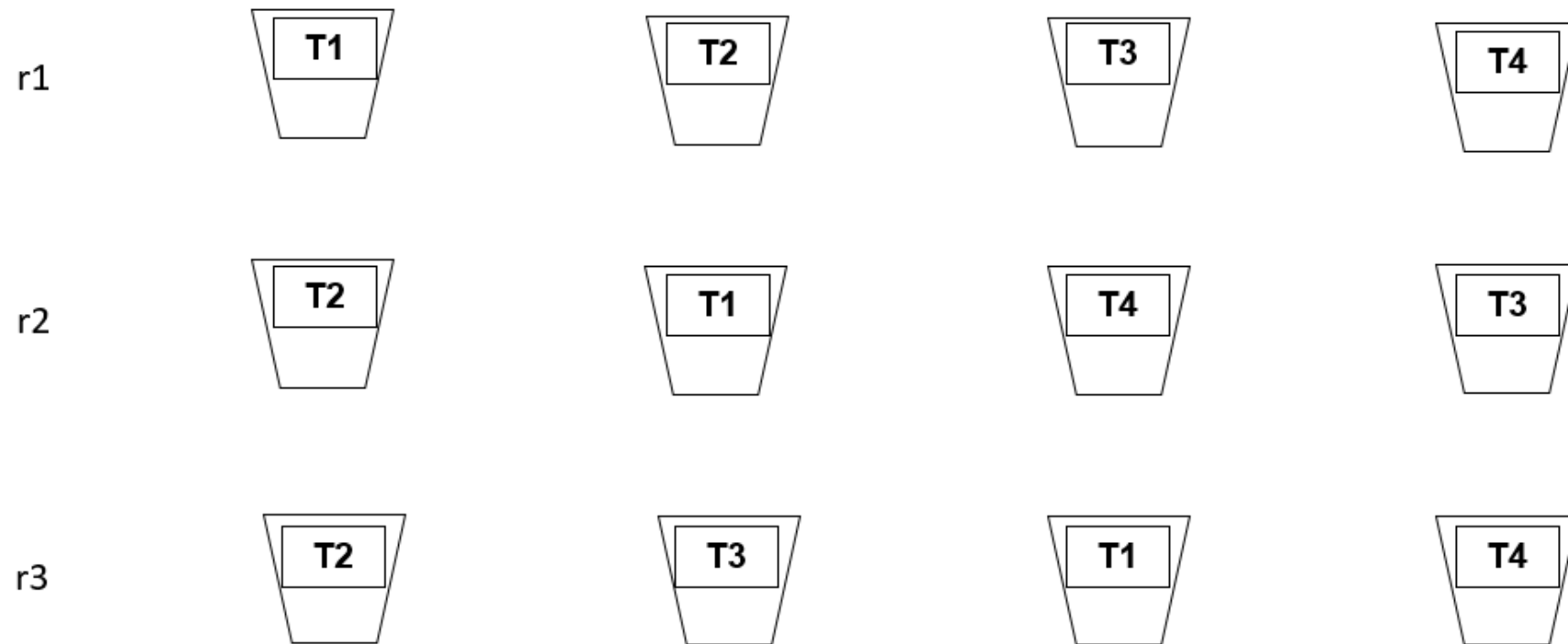
### 3.2.4. Lugar de muestreo y obtención de muestras

El muestreo se realizó en el distrito San José de Lambayeque ubicado a 6°45'35.65" de latitud sur y 79°57'41.35" de longitud oeste (INDECI, 2003). El distrito limita: por el norte con el distrito de Lambayeque, por el sur con Pimentel, por el este con José Leonardo Ortiz y Chiclayo y por el oeste con el Océano Pacífico (Figura 2). La zona presenta un clima desértico subtropical, con una temperatura media de 21°C, un área de 43,73 km<sup>2</sup>, una población de 15 846 habitantes y una densidad de 339,1 hab/km<sup>2</sup> al 2017 (Wikipedia, 2017).

En el sector de riego "La Madrid", de la Comunidad Campesina San José en el distrito de San José, se colectaron muestras en un bosque con algarrobos, *Acacia macracantha* "faique" y *Schinus molle* L. "molle". Se seleccionaron 18 árboles de algarrobos de similar fenotipo y en cada uno se extrajeron tres muestras de raíces y suelo rizosférico. Para la obtener las muestras se retiró el suelo hasta una profundidad de 0,60 m y se colectaron 0,1 kg de raíces y suelo adherido, se depositaron en bolsas de polietileno debidamente identificadas y se transportaron en una caja térmica (10± 1°C) hacia el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo en Lambayeque.

**Figura 1**

*Diseño completamente aleatorio para determinar el efecto de Bacillus spp. en Raphanus sativus L.*



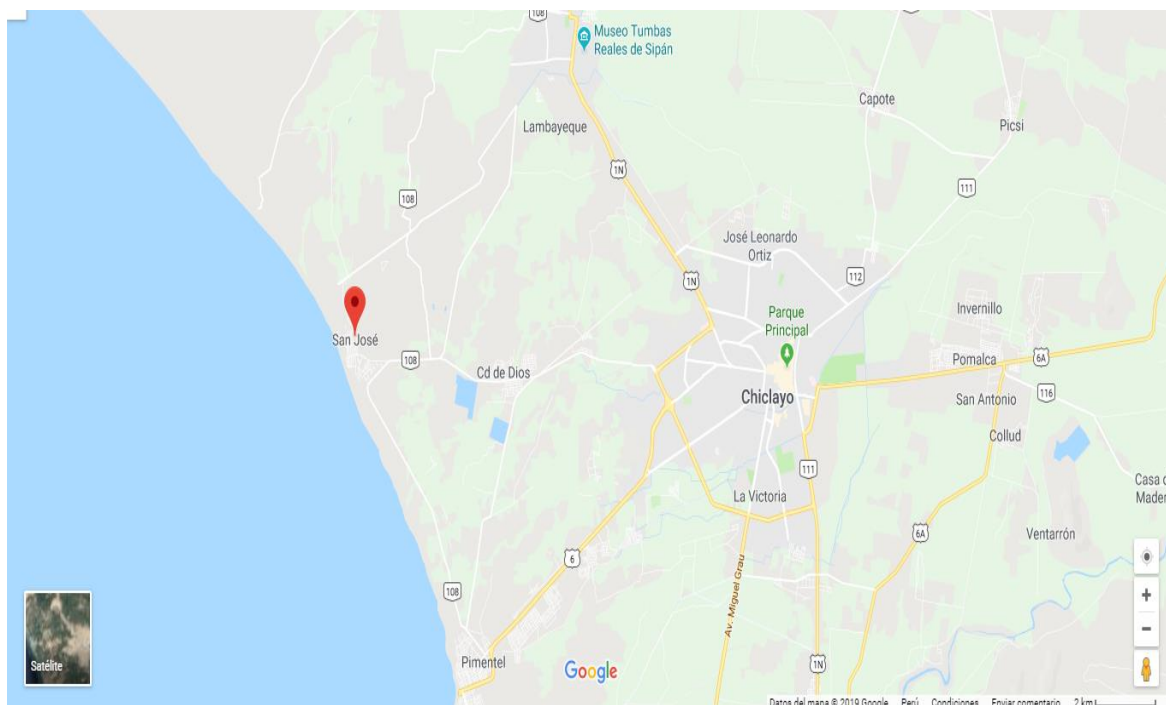
T1: Testigo sin *Bacillus* sp.

T2 a T4: *Bacillus* spp.



**Figura 2**

*Distrito San José en Lambayeque, 2018 (<https://www.google.com/maps/@-6.7551488,-79.9077431,12.75z>)*

**Figura 3**

*Ubicación del lugar de muestreo en el sector La Madrid de la Comunidad Campesina San José de Lambayeque, región Lambayeque, 2018. (<https://goo.gl/maps/23DzthWVvZnDmuDM9>).*



**Figura 4**

*Bosque en el sector La Madrid de la Comunidad Campesina San José, 2018.*



En simultáneo al muestreo de raíces con suelo rizosférico de algarrobo para el aislamiento de *Bacillus* spp., se colectó una muestra representativa de 2kg de suelo radicular para realizar el análisis físico - químico en el Instituto Nacional de Innovación Agraria, Estación Experimental Vista Florida de Chiclayo. Según los resultados, el suelo es salino-sódico (conductividad eléctrica,  $CE = 23,68 \text{ dSm}^{-1}$  y porcentaje de sodio intercambiable,  $PSI = 24.65\%$ )

### **3.2.5. Aislamiento de *Bacillus* spp.**

Para el aislamiento de *Bacillus* spp. (Baig et al., 2012), las muestras de raíces y suelo rizosférico se deshidrataron bajo sombra durante 72 horas, las raíces se fragmentaron (5cm), aleatoriamente se tomaron 10g de raíces junto con suelo adherido, se depositaron en frascos de 250mL de capacidad con 90mL de solución salina esterilizada (Figura 6), NaCl 0,85% p/v y se agitaron manualmente durante 10 minutos. Las diluciones ( $10^{-1}$ ) se llevaron a tratamiento térmico, a  $80^{\circ}\text{C}$ , durante 10 minutos (Figura 7) y se enfriaron rápidamente con agua de caño (Ríos y Zuñiga, 2012).

Después del enfriamiento, se tomaron alícuotas de las diluciones de suelo tratadas, se sembraron mediante la técnica de agotamiento y estría sobre la superficie de agar nutritivo (Anexo B) con 5% de NaCl en placas de Petri y se incubaron en aerobiosis, a  $30^{\circ}\text{C}$  hasta por 120 horas. Con las bacterias de las colonias desarrolladas a las 48 y 120 horas se realizaron tinciones de Gram y los bacilos Gram positivos, esporulados, móviles, catalasa y oxidasa positivos (García et al., 2015), se cultivaron en Agar Tripticasa Soya (TSA) con 5% NaCl en aerobiosis, constituyendo los cultivos de *Bacillus* spp. que se guardaron en refrigeración ( $8^{\circ}\text{C}$ ).

### **3.2.6. Selección de *Bacillus* spp. con actividad ACC desaminasa y tolerancia de cloruro de sodio**

En los cultivos de *Bacillus* spp. se investigó la actividad ACC desaminasa de forma cualitativa por la utilización del ACC (Anexo C) como fuente de nitrógeno en el medio mínimo Dworkin & Foster (DF) a un pH de 7,2 teniendo un testigo del mismo medio con sulfato de amonio como fuente de nitrógeno. (Siddiquee et al., 2011; Penrose y Glick, 2003).

**Tabla 1**

*Posición georeferencial de los puntos muestreados en las raíces Prosopis limensis Benth. en el sector La Madrid, Comunidad Campesina San José, Lambayeque, 2018*

Árboles	Nº de muestras	Posición georeferencial
1 A	A1	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252105
	A2	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252102
	A3	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252130
2 B	B1	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252150
	B2	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252170
	B3	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252151
3 C	C1	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252170
	C2	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252900
	C3	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252100
4 D	D1	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252140
	D2	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252500
	D3	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252108
5 E	E1	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252140
	E2	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252600
	E3	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252400
6 F	F1	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252408
	F2	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252407
	F3	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252409
7 G	G1	-6.736882, -79.9431286°44'12"S, 79°56'35"W17 S 616802 9255211
	G2	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252601
	G3	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252602
8 H	H1	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252603
	H2	-6.737108, -79.9433786°44'13"S, 79°56'36"W17 S 616775 9255186
	H3	-6.737146, -79.9431796°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616797 9255182
9 I	I1	-6.737135, -79.9431626°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616799 9255185
	I2	-6.737135, -79.9431626°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616799 9255186
	I3	-6.737135, -79.9431626°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616799 9255184
10 J	J1	-6.737134, -79.9431516°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616800 9255188
	J2	-6.737135, -79.9431626°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616799 9255148
	J3	-6.737135, -79.9431626°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616799 9255188
11 K	K1	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252600
	K2	-6.737135, -79.9431626°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616799 9255183
	K3	-6.737135, -79.9431626°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616799 9255188
12 L	L1	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252600
	L2	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252605
	L3	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252605
13 M	M1	-6.737134, -79.9431696°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616798 9255183
	M2	-6.737123, -79.9431646°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616799 9255184
	M3	-6.737135, -79.9431626°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616799 9255183
14 N	N1	-6.737135, -79.9431626°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616799 9255183
	N2	-6.737135, -79.9431626°44'13"S, 79°56'35"W17 S 616799 9255183
	N3	-6.737032, -79.9429986°44'13"S, 79°56'34"W17 S 616817 9255194
15 O	O1	-6.737032, -79.9429986°44'13"S, 79°56'34"W17 S 616817 9255194
	O2	-6.737036, -79.9430016°44'13"S, 79°56'34"W17 S 616817 9255194
	O3	-6.773736, -79.9243426°46'25"S, 79°55'27"W17 S 618870 9251132
16 P	P1	-6.737032, -79.9429986°44'13"S, 79°56'34"W17 S 616817 9255194
	P2	-6.737032, -79.9429986°44'13"S, 79°56'34"W17 S 616817 9255191
	P3	-6.737032, -79.9429986°44'13"S, 79°56'34"W17 S 616817 9255194
17 Q	Q1	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252100
	Q2	-6.709208, -79.9159476°42'33"S, 79°54'57"W17 S 619814 9258264
	Q3	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252600
18 R	R1	-6.736969, -79.9429416°44'13"S, 79°56'34"W17 S 616824 9255201
	R2	-6.736969, -79.9429416°44'13"S, 79°56'34"W17 S 616824 9255201
	R3	-6.764879, -79.8795586°45'53"S, 79°52'46"W17 S 623822 9252100



**Figura 5**

*Extracción de suelo para la obtención de raíces de *Prosopis limensis* Benth. en la Comunidad Campesina San José de Lambayeque, 2018.*

**Figura 6**

*Diluciones de suelo rizosférico en solución salina esterilizada, Lambayeque 2018.*



**Figura 7**

*Tratamiento térmico de las diluciones del suelo rizosférico de Prosopis limensis Benth, Lambayeque 2018.*



Las bacterias cultivadas por duplicado en 1 mL de medio mínimo DF con ACC y sulfato de amonio (Figura 8) por 24 horas, se incubaron en 2 mL de los mismos medios, se incubaron a 30°C por 24 horas (Xu et al., 2013) y la turbidez similar por el crecimiento bacteriano en ambos medios, denotó la utilización del ACC como fuente de nitrógeno y por lo tanto, la positividad para la actividad ACC desaminasa (Angulo et al., 2014).

A los cultivos de *Bacillus* con actividad ACC desaminasa se les determinó la tolerancia a diferentes concentraciones de NaCl, para lo cual, las bacterias se sembraron en caldo nutritivo suplementado con 5,0; 7,5 y 10% p/v NaCl, a 30 °C y la turbidez por el crecimiento bacteriano denotó la tolerancia al NaCl (Quin et al., 2014).

### **3.2.7. Efecto de *Bacillus* spp. en la germinación de semillas de *Raphanus sativus* L. bajo estrés salino**

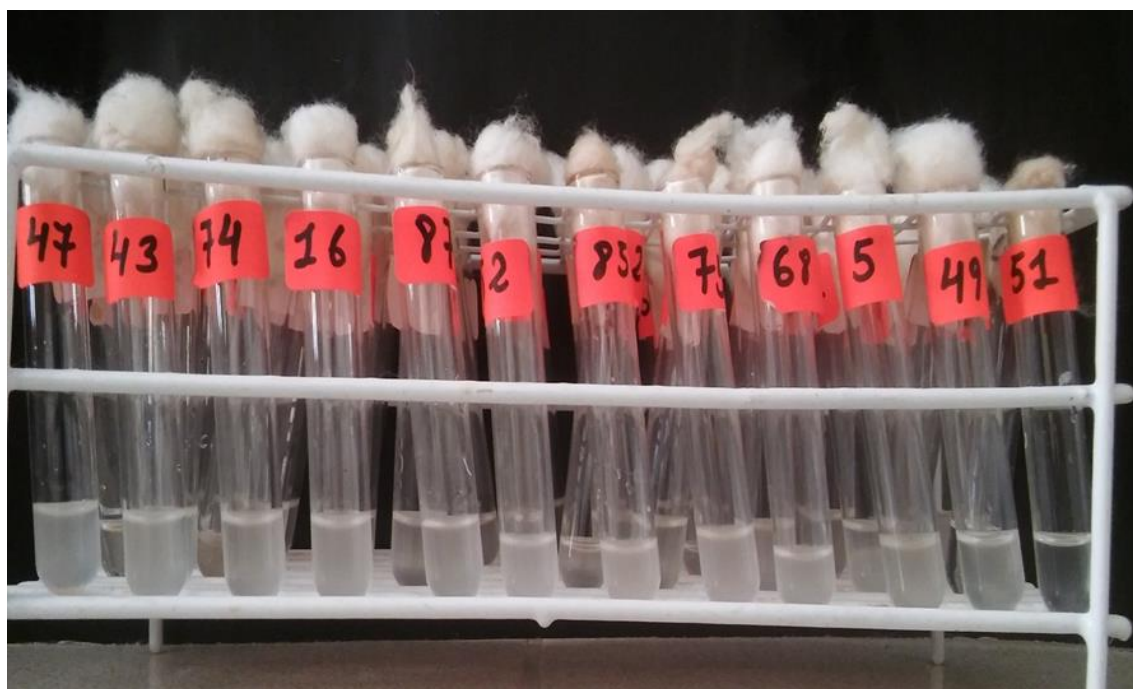
En el ensayo se utilizaron semillas de rabanito variedad Champion, que se comercializan luego de ser tratadas con fungicida. A las semillas previamente se les determinó el porcentaje de germinación en cinco placas de Petri (Figura 9), en cuyo fondo se colocaron tres capas de papel filtro humedecido con agua destilada esterilizada. Con una pinza se depositaron 20 semillas de rabanito por placa, éstas se taparon con papel aluminio y se mantuvieron en la estufa a 30°C, humedeciéndolas según los requerimientos hasta obtener el máximo de germinación a los 7 días (Contreras y Carreño, 2018).

El inóculo se obtuvo con las bacterias cultivadas por dos veces consecutivas en 5 mL de medio mínimo DF con 0,85M NaCl (~5%) y 3mM de ACC, con agitación constante manual diaria por 5 minutos a las 6, 12, 18 y 24 horas. Después del segundo cultivo la biomasa bacteriana o pellet se concentró por centrifugación, se lavó tres veces consecutivas con una solución 0,03M de MgSO<sub>4</sub> y su concentración se estandarizó por turbidimetría (Ramírez, 2015), con la misma solución a  $1,5 \times 10^8 \text{ cel mL}^{-1}$  (tubo N° 0,5 del nefelómetro de Mc Farland).



**Figura 8**

*Inóculo de Bacillus spp. en medio mínimo Dworkin & Foster, Lambayeque 2019.*

**Figura 9**

*Prueba de germinación de semillas de Raphanus sativus L., Lambayeque 2019.*





En el ensayo, placas de Petri esterilizadas se acondicionaron con tres capas de papel filtro humedecido con agua destilada (testigo) y una solución de 80mM NaCl, equivalentes a CE de 0 y 6,94 dSm<sup>-1</sup>, respectivamente (Ramírez, 2015). Las semillas previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio 3% durante 1 minuto y enjuagadas con agua destilada esterilizada cinco veces consecutivas (Orhan, 2016), se inocularon por inmersión con 1mL del inóculo bacteriano (Figura 10), a 30°C durante 10 horas, incluyendo un control negativo con agua destilada esterilizada (Qin et al., 2014) y se depositaron por triplicado en las placas de Petri previamente acondicionadas, a razón de 40 semillas por placa (Figura 11).

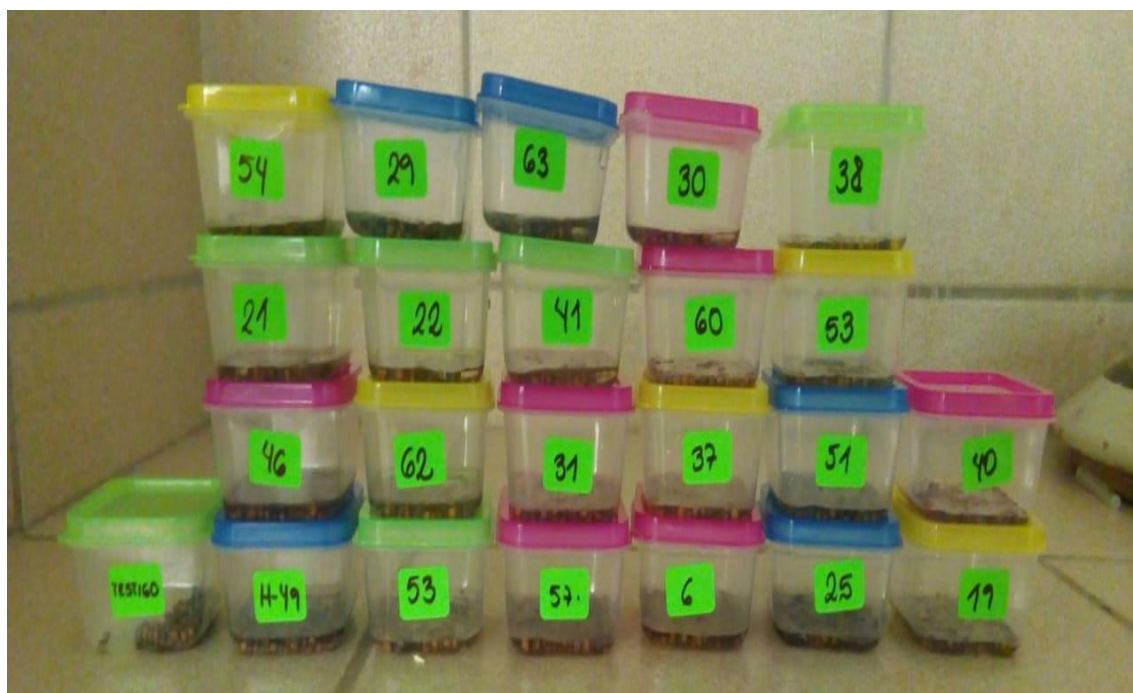
Las placas de Petri se cubrieron con papel aluminio y cada 3 días durante 12 días, se registraron las radículas emergidas con 2 o más mm de longitud, calculándose el porcentaje y la tasa de germinación (Rueda et al., 2009):  $M = n1/t1 + n2/t2 + \dots + n40/t12$ , donde n1, n2..... n40 representa el número de semillas germinadas en el tiempo t1, t2..... t12 (días).

### **3.2.8. Identificación en *Bacillus* spp. de las características que evidencian *in vitro* promoción de crecimiento vegetal**

Los cinco cultivos de *Bacillus* spp. con los que se alcanzaron los mayores y menores valores en la tasa de germinación se seleccionaron para identificar las características que evidencian *in vitro* promoción de crecimiento vegetal como la producción de indoles y la solubilización de fosfatos en medios líquido y sólido (Zhou et al., 2017). Para obtener el inóculo, los caldos nutritivos cultivados (24 horas) con cada bacteria seleccionada, se centrifugaron (3500 rpm) por 5 minutos, obteniéndose el sedimento que fue lavado con solución salina esterilizada (NaCl 0,85 % p/v) y su concentración celular se estandarizó por turbidimetría a  $9 \times 10^8$  cel mL<sup>-1</sup> (tubo 3 del nefelómetro de Mc Farland).

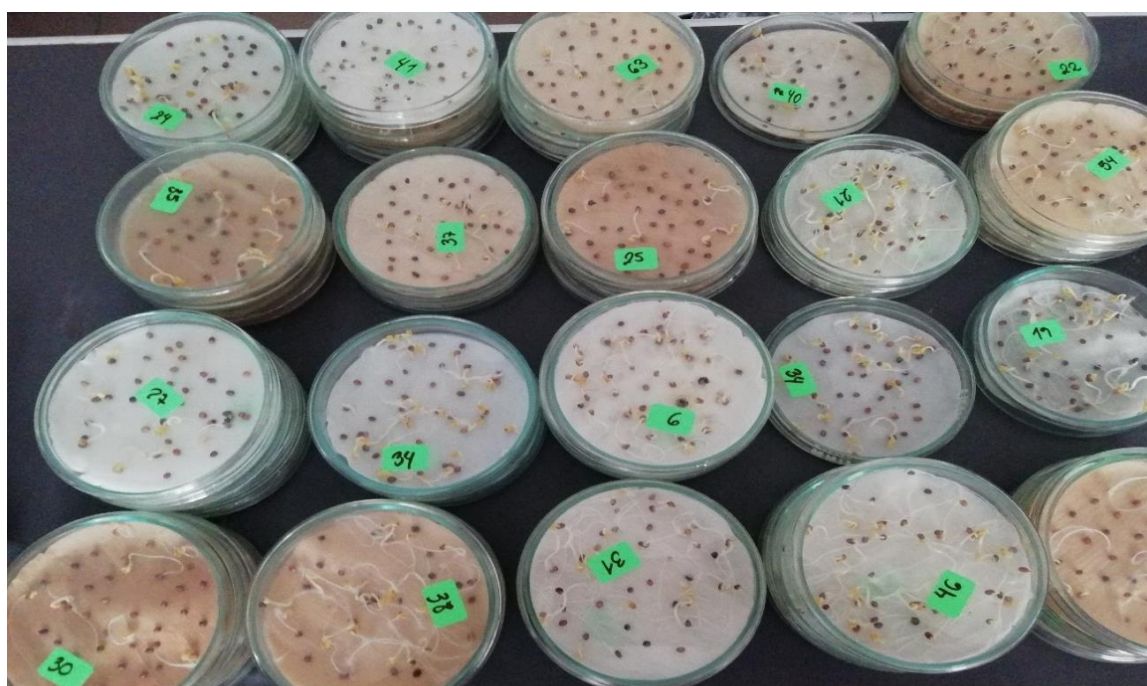
**Figura 10**

*Semillas de Raphanus sativus L. inoculadas con Bacillus spp., Lambayeque 2019.*



**Figura 11**

*Placas de Petri acondicionadas con semillas de Raphanus sativus L., Lambayeque 2019.*



Los indoles producidos *in vitro* por las bacterias se cuantificaron mediante la técnica de Salkowski (García et al., 2010). El inóculo de bacterias (5 %) se sembró por triplicado en 5 mL de caldo triptosa soya suplementado con triptófano (Anexo B), se incubó a 30° C por 72 horas, se centrifugó (3000 rpm) durante 5 minutos y 0,4 mL de cada sobrenadante se mezclaron en 1,6 mL del reactivo de Salkowski modificado. Después de 30 minutos de reposo en oscuridad, se observó una coloración rosada, cuya absorbancia se leyó con el espectrofotómetro de luz visible (Model Tenso Med NV-203) a 530 nm y las concentraciones de indoles se calcularon en la ecuación de la curva de calibración, obtenida previamente con las diluciones de una solución de 100 ppm de ácido indol acético (Anexo D).

El fosfato solubilizado *in vitro* en medio líquido por las bacterias se cuantificó mediante la técnica del molibdato (Escobar et al., 2011). El inóculo de las bacterias (5 %) se sembró por triplicado en 5 mL de caldo National Botanical Research Institute's phosphate, NBRIP (Anexo B), se incubó a 30°C y transcurridos 96 horas, el caldo se centrifugó (3000 rpm) durante 5 minutos. En el sobrenadante se cuantificó el fósforo soluble (Rodier y Rodi, 2005) observando una coloración azul, cuya absorbancia se leyó en el espectrofotómetro de luz visible (Model Tenso Med NV-203) a 690 nm y las concentraciones de fósforo soluble se calcularon con la ecuación de la curva de calibración, obtenida previamente con diluciones de 10 ppm de fósforo (Anexo E).

El fosfato solubilizado *in vitro* en el medio sólido se determinó observando los halos claros alrededor de las colonias de bacterias y calculando el índice de solubilización (Lara et al., 2011). Las bacterias se cultivaron en agar nutritivo por 24 horas y se sembraron por triplicado, mediante puntura superficial en agar NBRIP (Anexo B). Después de la incubación a 30°C durante 96 horas se midió el diámetro de la colonia bacteriana y el diámetro de la colonia más el halo de solubilización y se calculó el índice de solubilización de fosfato (García y Alvarez, 2012).

$$\text{Índice de solubilización} = \frac{\text{Diámetro colonia} + \text{Diámetro de colonia en halo}}{\text{Diámetro de colonia}}$$

Para determinar el efecto en el desarrollo de rabanito se seleccionaron los tres cultivos de *Bacillus* spp. con los mayores valores de indoles producidos y fosfatos solubilizados.

### **3.2.9. Efecto de *Bacillus* spp. en la emergencia y desarrollo de *Raphanus sativus* L. en suelos sin y con estrés salino**

El efecto de *Bacillus* spp. en la emergencia y desarrollo de rabanito se determinó en dos ensayos en condiciones de invernadero, bajo un diseño experimental completamente aleatorio (DCA) con cuatro tratamientos por ensayo: testigo sin *Bacillus* sp. (T1) y tratamientos con *Bacillus* spp. (T2 a T4).

El suelo experimental estuvo constituido por 36 kg de suelo no salino ( $1,58 \text{ dSm}^{-1}$ ) y 36 kg de suelo con salinidad ( $8,23 \text{ dSm}^{-1}$ ). La concentración de sales (CE) se determinó en el Instituto Nacional de Innovación Agraria, Estación Experimental, Vista Florida de Chiclayo (Anexo F). El suelo se distribuyó en macetas de arcilla de 4 kg de capacidad, a razón de 3 kg por maceta, en cuya base internamente se depositaron 0,5 kg de grava para facilitar el drenaje.

El inóculo se obtuvo con tres cultivos de *Bacillus* spp. a los que previamente se le indujo a la producción de ACC desaminasa (Ramírez, 2015). Las bacterias fueron cultivadas en caldo tripticasa soya con 0,85M NaCl (~5%), a 30°C, con agitación manual diaria a los 6, 12, 18 y 24 horas. Los cultivos bacterianos se centrifugaron (3000 rpm) durante 5 minutos, el sobrenadante se descartó, la biomasa se cultivó en 5mL medio de mínimo DF con 0,85M NaCl (~5%) y 3Mm de ACC y se incubó a 30°C durante 24 horas. La biomasa se concentró por centrifugación, se lavó con una solución 0,03M de  $\text{MgSO}_4$ ; se resuspendió en la misma solución y la concentración se estandarizó a  $1,5 \times 10^8 \text{ cel mL}^{-1}$  por turbidimetría con el nefelómetro de Mc Farland (Ramírez, 2015).

Las semillas (24 por tratamiento) de rabanito se inocularon por inmersión durante 3 horas en 7,5 mL del inóculo bacteriano correspondiente. En el testigo las semillas fueron sumergidas en agua destilada (7,5 mL). Las semillas inoculadas (cuatro por maceta) fueron sembradas en dos surcos (dos semillas en cada uno) a una distancia de 1 cm entre semillas y una profundidad de 2 cm (Figuras 12, 13). Las macetas acondicionadas con el suelo experimental se mantuvieron, en condiciones de invernadero, realizándose los riegos requeridos con agua previamente decolorada (24 horas).

El ensayo se realizó entre el 1 de noviembre al 30 de noviembre de 2019, registrándose las temperaturas máximas, mínimas y medias en la Estación Meteorológica de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, ubicada en el fundo “El Cienago” de Lambayeque (Anexo G).

Transcurridos 10 días se contaron las plántulas emergidas y cada 5 días a partir de los 15 días se midió la altura de las plantas (Figura 14). A los 30 días se determinó la altura, el número de hojas y el peso de la biomasa aérea (Figura 15) y radicular, calculándose los índices de efectividad (IE) en porcentaje (García et al., 2010):

$$IE (\%) = \frac{\text{Tratamiento con inoculación} - \text{Control sin inoculación}}{\text{Control sin inoculación}} \times 100$$

### 3.2.10. Análisis estadístico de los datos

Los valores obtenidos con los parámetros del desarrollo de las plantas de rabanito fueron sometidos a las pruebas de normalidad (Shapiro – Wilk) y homogeneidad de varianzas (Bartlett). A continuación, se realizó el análisis de varianza, para determinar las diferencias entre los tratamientos y la prueba de comparaciones múltiples de Tukey para establecer la significancia ( $p < 0,05$ ) entre ellos (Hernández et al., 2014), utilizando los programas Microsoft Office Word y Excel versión 2016.



**Figura 12**

*Suelo experimental distribuido en macetas de arcilla, Lambayeque 2019.*



**Figura 13**

*Siembra de semillas de *Raphanus sativus* L., Lambayeque 2019.*



**Figura 14**

*Medición de la altura de *Raphanus sativus* L., Lambayeque 2019.*



**Figura 15**

*Pesaje de la biomasa aérea de *Raphanus sativus* L., Lambayeque 2019.*



## IV. RESULTADOS

### 4.1. Bacterias del género *Bacillus* aisladas e identificadas

En las 54 muestras de raíces con suelo rizosférico de algarrobo se aislaron bacterias del género *Bacillus*, obteniéndose 109 cultivos puros, que fueron agrupados según la forma, borde, aspecto y elevación de las colonias (Figuras 16 a 21). Se observaron seis morfotipos, con una frecuencia que osciló entre 4,59 a 56,88% (Tabla 2). Las bacterias del género *Bacillus* se observaron cómo bacilos Gram positivos, esporulados, móviles, con positividad en las pruebas de catalasa y crecimiento en aerobiosis.

### 4.2. *Bacillus* spp. con actividad ACC desaminasa y tolerancia al cloruro de sodio

El 16,5% de *Bacillus* spp. demostró positividad en la actividad ACC desaminasa, al desarrollar turbidez (Figuras 22, 23) en el medio mínimo Dworkin & Foster con ACC como fuente de nitrógeno durante 24 horas y todos estos bacilos presentaron tolerancia a 5,0; 7,5 y 10% NaCl.

### 4.3. Efecto de *Bacillus* spp. en la germinación de semillas de *Raphanus sativus* L. bajo estrés salino

El porcentaje de semillas de rabanito germinadas fue de 6,67% (*Bacillus* sp. 4) a 27,50% (*Bacillus* sp. 27) a los 3 días; 15,83% (*Bacillus* sp.24) a 50,00% (*Bacillus* spp. 21 y 27) a los 6 días; 24,17% (*Bacillus* sp.24) a 72,50% (*Bacillus* spp. 21, 27 y 42) a los 9 días y 29,17% (*Bacillus* sp.24) a 93,33% (*Bacillus* sp.27) a los 12 días (Figura 24, tabla 3). En el testigo absoluto los porcentajes de germinación fueron de 15,0% (3 días); 40,0% (6 días); 62,50% (9 días) y 82,50% (12 días), en comparación con el testigo NaCl en el que los valores fueron de 6,67% (3 días); 11,67% (6 días); 20,83% (9 días) y 30,83% (12 días).



**Tabla 2**

*Frecuencia de morfotipos de Bacillus spp., según características de las colonias en agar nutritivo con 5% de NaCl, Lambayeque 2019*

Morfotipo	Colonia				Frecuencia	
	Forma	Borde	Aspecto	Elevación	Nº	%
1	Circular	Entero	Brillante	Plana	62	56,88
2	Circular	Ondulado	Brillante	Plana	15	13,76
3	Irregular	Ondulada	Brillante	Plana	11	10,10
4	Irregular	Ondulado	Cremosa	Crateriforme	10	9,17
5	Irregular	Ondulada	Cremosa	Umbilicada	6	5,50
6	Circular	Ondulado	Cremosa	Papilada	5	4,59
Total					109	100

**Figura 16**

*Observación microscópica (40x) de colonia circular con borde entero de Bacillus sp., Lambayeque 2019.*



**Figura 17**

*Observación microscópica (40x) de colonia circular con borde ondulado de Bacillus sp., Lambayeque 2019.*

**Figura 18**

*Observación microscópica (40x) de colonia irregular con borde ondulado de Bacillus sp., Lambayeque 2019.*



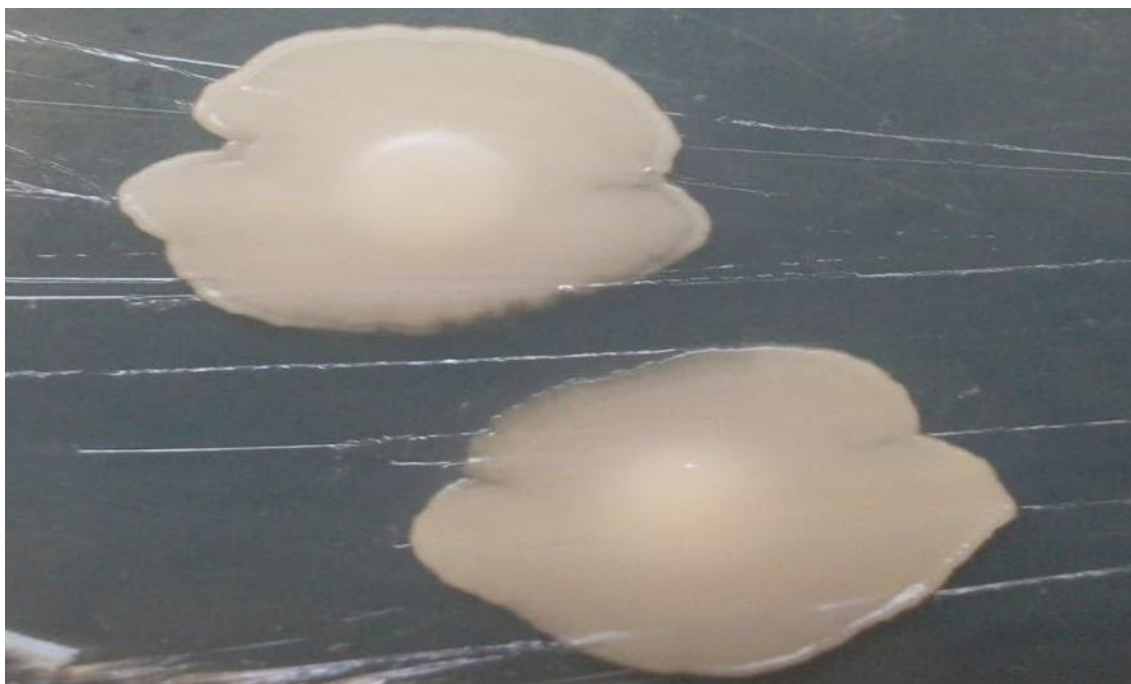
**Figura 19**

*Observación microscópica (40x) de colonia irregular con borde ondulado, aspecto cremoso y elevación crateriforme de Bacillus sp., Lambayeque 2019.*



**Figura 20**

*Observación microscópica (40x) de colonias irregulares con borde ondulado y elevación umbilicada de Bacillus spp., Lambayeque 2019.*



**Figura 21**

*Observación microscópica (40x) de colonia circular con borde ondulado y elevación papilada de Bacillus sp., Lambayeque 2019.*



**Figura 22**

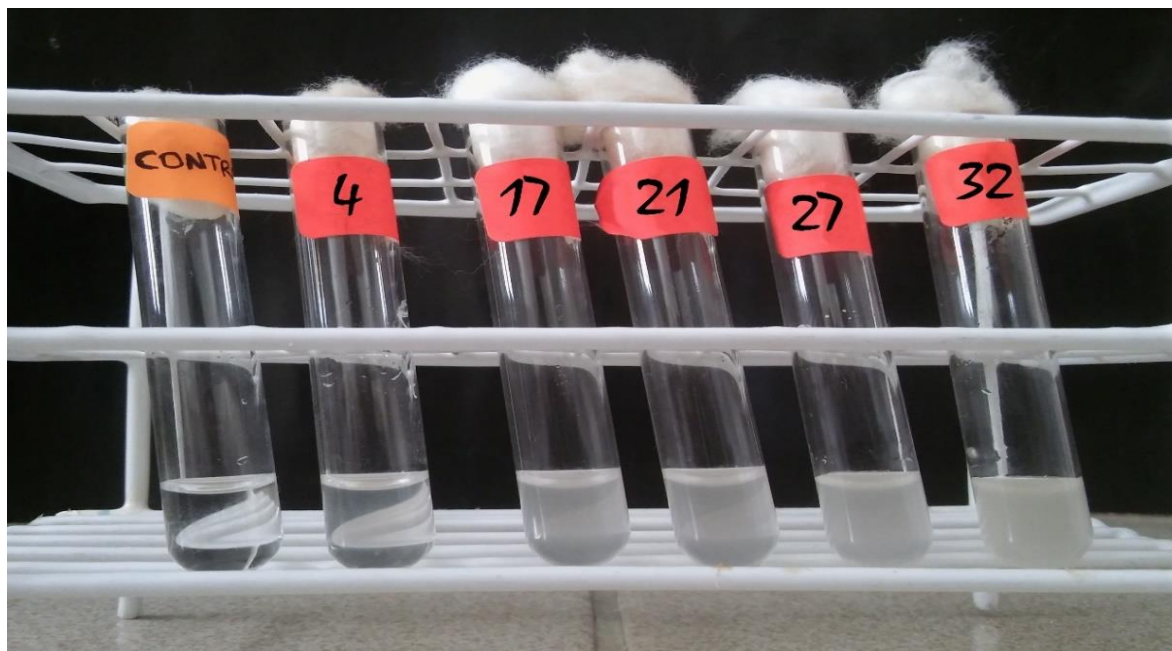
*Bacillus spp. cultivados en medio mínimo Dworkin & Foster, Lambayeque 2019.*





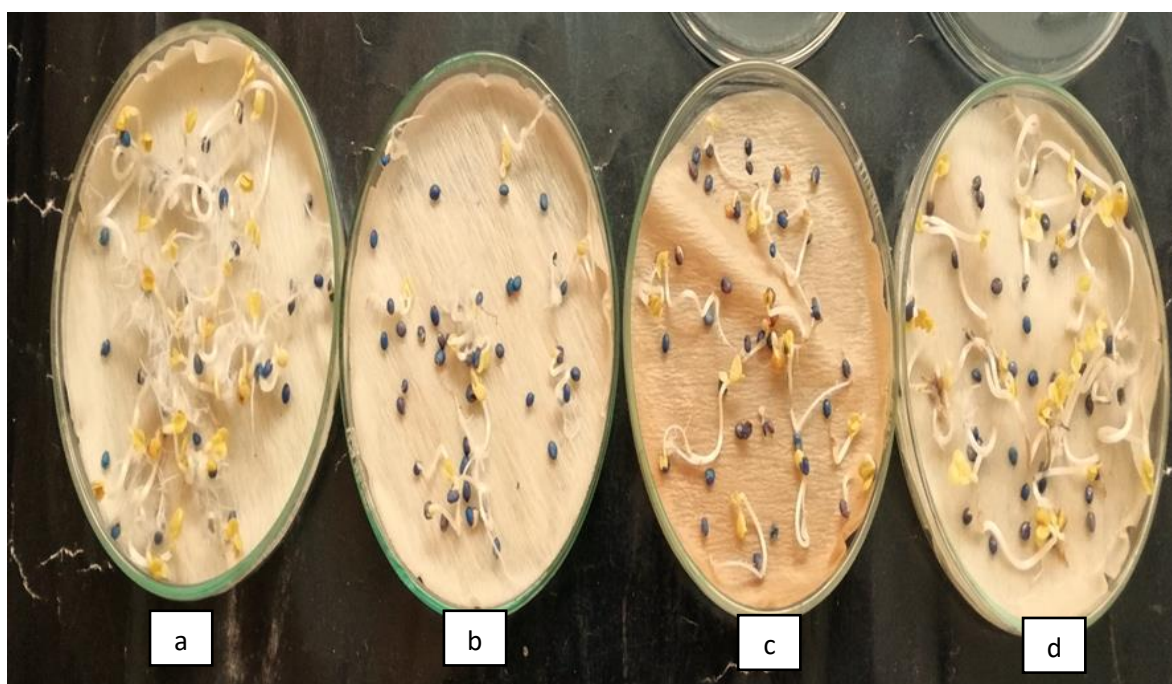
**Figura 23**

*Turbidez por el crecimiento de Bacillus spp. 4, 17, 21, 27, 32, en medio mínimo Dworkin & Foster, Lambayeque 2019.*



**Figura 24**

*Germinación de semillas de Raphanus sativus L. bajo estrés salino: a) testigo sin NaCl, b) testigo con NaCl, c) Bacillus sp. 32, d) Bacillus sp. 21., Lambayeque 2019*



**Tabla 3**

*Porcentaje de germinación de semillas de Raphanus sativus L. bajo estrés salino por efecto de Bacillus spp., Lambayeque 2019*

Tratamientos	Porcentaje de germinación*/días							
	3		6		9		12	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Testigo absoluto	6,00	15,00	16,00	40,00	25,00	62,50	33,00	82,50
Testigo NaCl	2,67	6,67	4,67	11,67	8,33	20,83	12,33	30,83
<i>Bacillus</i> sp. 1	4,00	10,00	7,67	19,17	12,00	30,00	14,00	35,00
<i>Bacillus</i> sp. 4	2,67	6,67	7,67	19,17	11,33	28,33	16,33	40,83
<i>Bacillus</i> sp.13	3,67	9,17	6,67	16,67	11,33	28,33	14,33	35,83
<i>Bacillus</i> sp.14	3,33	8,33	7,33	18,33	10,67	26,67	14,33	35,83
<i>Bacillus</i> sp.16	6,00	15,00	12,00	30,00	16,33	40,83	21,33	53,33
<i>Bacillus</i> sp.17	9,33	23,33	16,33	40,83	22,33	55,83	28,00	70,00
<i>Bacillus</i> sp.21	10,67	26,67	20,00	50,00	29,00	72,50	34,67	86,67
<i>Bacillus</i> sp.24	3,00	7,50	6,33	15,83	9,67	24,17	11,67	29,17
<i>Bacillus</i> sp.27	11,00	27,50	20,00	50,00	29,00	72,50	37,33	93,33
<i>Bacillus</i> sp.29	6,00	15,00	10,33	25,83	14,33	35,83	17,00	42,50
<i>Bacillus</i> sp.31	6,33	15,83	11,33	28,33	15,00	37,50	18,33	45,83
<i>Bacillus</i> sp.32	10,67	26,67	19,67	49,17	28,33	70,83	36,00	90,00
<i>Bacillus</i> sp.37	6,67	16,67	10,67	26,67	14,67	36,67	18,33	45,83
<i>Bacillus</i> sp.38	7,33	18,33	13,00	32,50	18,00	45,00	22,33	55,83
<i>Bacillus</i> sp.39	7,67	19,17	14,00	35,00	19,33	48,33	22,67	56,67
<i>Bacillus</i> sp.40	8,00	20,00	16,00	40,00	22,33	55,83	28,00	70,00
<i>Bacillus</i> sp.42	10,33	25,83	19,67	49,17	29,00	72,50	34,33	85,83
<i>Bacillus</i> sp.48	7,67	19,17	14,00	35,00	21,67	54,17	26,67	66,67

\*Promedio de tres repeticiones

La inoculación de *Bacillus* spp. incrementó la tasa de germinación (4,10 - 13,33) de las semillas de rabanito, en comparación con el testigo NaCl (3,62) y cinco cultivos de *Bacillus* spp. superaron (10,65 - 13,33) inclusive al testigo absoluto (Tabla 4, anexo H).

#### **4.4. Características que evidencian *in vitro* promoción de crecimiento vegetal en las especies de *Bacillus* con actividad ACC desaminasa**

Los diez cultivos de *Bacillus* spp. con los que se alcanzaron los cinco mayores valores y cinco menores valores en la tasa de germinación de rabanito seleccionados para determinar las características que evidencian *in vitro* promoción de crecimiento vegetal, produjeron índoles y solubilizaron fosfato tricálcico (Figuras 25 a 29, tabla 5).

Se cuantificaron 48,24 a 66,13 ppm de índoles con *Bacillus* spp. 27 y 21 respectivamente (Figura 27, tabla 5). En la solubilización de fosfato tricálcico en medio líquido, se cuantificaron 27,54 a 28,63 ppm de fósforo soluble con *Bacillus* spp. 4, 27 y 42 respectivamente (Figura 28, tabla 5). En la solubilización de fosfato tricálcico en medio sólido, se observaron halos transparentes alrededor de las colonias, alcanzándose índices de solubilización de 2,15 a 3,50 con *Bacillus* spp. 4, 32 y 21 respectivamente (Figura 29, tabla 5, anexo I).

#### **4.5. Efecto de tres cultivos de *Bacillus* en la emergencia y desarrollo de rabanito en suelos sin y con salinidad**

Los valores de los parámetros del desarrollo de *R. sativus* L. “rabanito” se incrementaron por efecto de la inoculación de *Bacillus* spp. en relación con el testigo en suelos sin y con salinidad. La salinidad ( $CE=8,23 \text{ dSm}^{-1}$ ) disminuyó los valores de los parámetros del desarrollo vegetativo y rendimiento de rabanito; no obstante, *Bacillus* spp. incrementaron los valores en comparación con el testigo no inoculado (Tabla 6).

**Tabla 4**

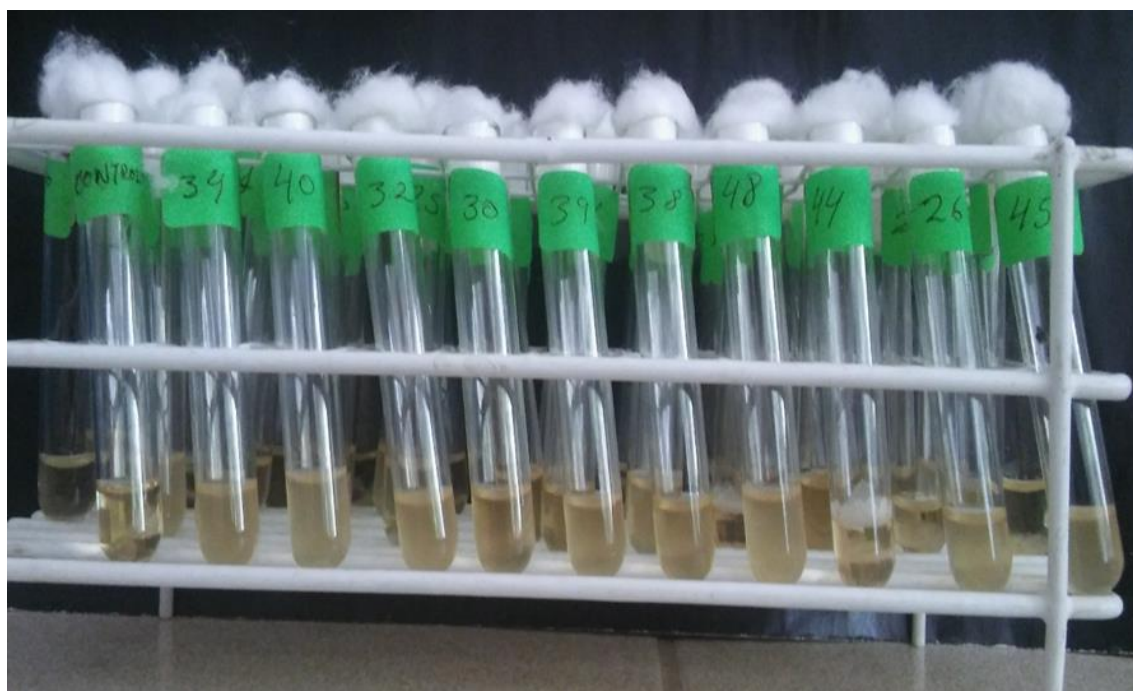
*Tasa de germinación de semillas de Raphanus sativus L. bajo estrés salino por efecto de Bacillus spp., Lambayeque 2019*

Tratamientos	Tasa de germinación/días				Tasa de germinación
	3	6	9	12	
<i>Bacillus</i> sp. 27	3,67	3,33	3,22	3,11	13,33
<i>Bacillus</i> sp. 21	3,56	3,33	3,22	2,89	13,00
<i>Bacillus</i> sp. 32	3,56	3,28	3,15	3,00	12,98
<i>Bacillus</i> sp. 42	3,44	3,28	3,22	2,86	12,81
<i>Bacillus</i> sp. 17	3,11	2,72	2,48	2,33	10,65
Testigo absoluto	2,00	2,67	2,78	2,75	10,19
<i>Bacillus</i> sp. 48	2,56	2,33	2,41	2,22	9,52
<i>Bacillus</i> sp. 39	2,56	2,33	2,15	1,89	8,93
<i>Bacillus</i> sp. 38	2,44	2,17	2,00	1,86	8,47
<i>Bacillus</i> sp. 16	2,00	2,00	1,81	1,78	7,59
<i>Bacillus</i> sp. 31	2,11	1,89	1,67	1,53	7,19
<i>Bacillus</i> sp. 37	2,22	1,78	1,63	1,53	7,16
<i>Bacillus</i> sp. 29	2,00	1,72	1,59	1,42	6,73
<i>Bacillus</i> sp. 1	1,33	1,28	1,33	1,17	5,11
<i>Bacillus</i> sp. 4	0,89	1,28	1,26	1,36	4,79
<i>Bacillus</i> sp. 13	1,22	1,11	1,26	1,19	4,79
<i>Bacillus</i> sp. 14	1,11	1,22	1,19	1,19	4,71
<i>Bacillus</i> sp. 24	1,00	1,06	1,07	0,97	4,10
Testigo NaCl	0,89	0,78	0,93	1,03	3,62



**Figura 25**

*Caldo tripticasa soya cultivado con Bacillus spp., Lambayeque 2019.*



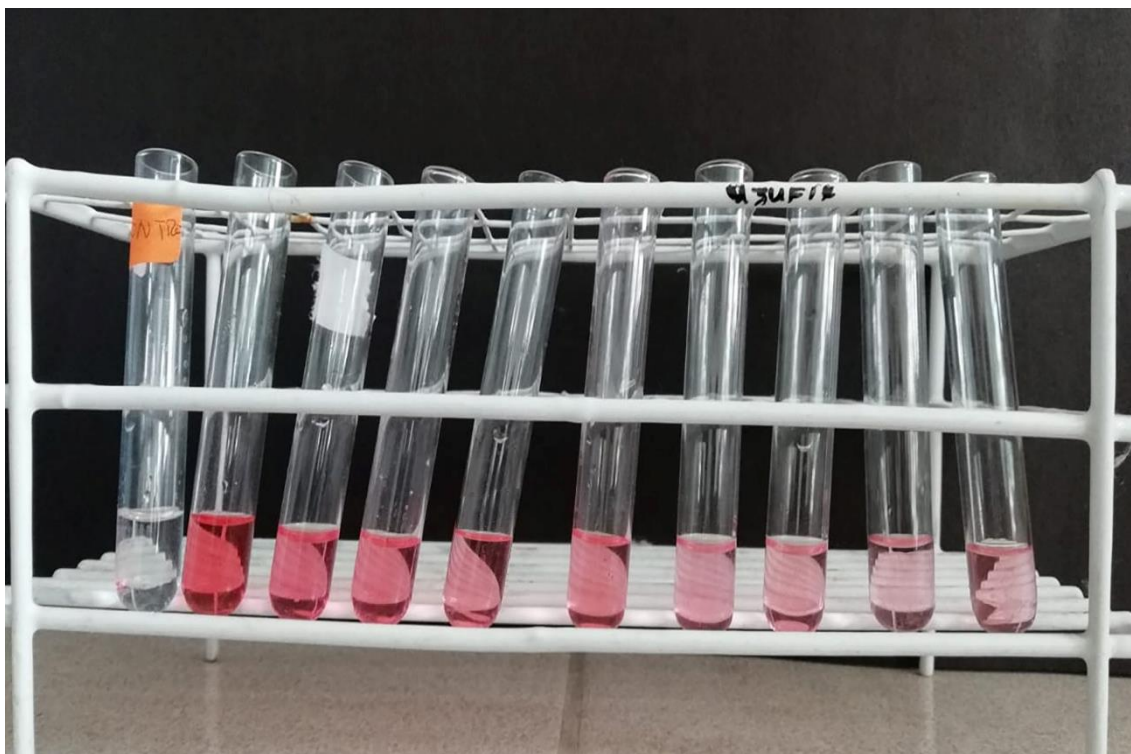
**Figura 26**

*Caldo National Botanical Research Institute's phosphate cultivado con Bacillus spp., Lambayeque 2019.*



**Figura 27**

*Coloración observada en la cuantificación de indoles, Lambayeque 2019.*

**Figura 28**

*Coloración observada en la cuantificación de fósforo soluble, Lambayeque 2019.*



**Figura 29**

*Halos de solubilización en agar National Botanical Research Institute's phosphate producidos por Bacillus sp. 21., Lambayeque 2019.*

**Tabla 5**

*Índices de solubilización de fosfato, fósforo soluble e índoles producidos por Bacillus spp., Lambayeque 2019*

<i>Bacillus</i> spp. Código	Índoles (ppm)	Fósforo soluble (ppm)	IS
1	52,69	28,18	2,20
4	58,47	27,54	2,15
13	65,68	27,08	3,43
14	50,02	28,03	2,93
24	52,47	27,63	3,10
17	48,47	28,24	2,75
42	56,24	28,63	3,25
32	57,58	27,67	3,50
21	66,13	28,08	3,50
27	48,24	28,63	2,87

**Tabla 6**

*Rango de valores en los parámetros del desarrollo de Raphanus sativus L. inoculados con Bacillus spp. en suelos sin y con salinidad*

Rango de valores en los parámetros del desarrollo	Suelo	
	No salino (CE=1,58 dSm <sup>-1</sup> )	Salino (CE=8,23 dSm <sup>-1</sup> )
Altura (cm)		
Testigo	9,42 – 17,17	4,25 – 12,33
<i>Bacillus</i> spp.	10,00 – 40,17	8,00 – 24,25
Número de hojas		
Testigo	6,33	5,50
<i>Bacillus</i> spp.	7,25 – 9,00	7,58 – 8,42
Peso de la biomasa aérea (g)		
Testigo	15,67	8,92
<i>Bacillus</i> spp.	16,50 – 26,00	10,67 – 14,33
Peso de raíces (g)		
Testigo	35,08	13,50
<i>Bacillus</i> spp.	44,58 – 53,57	24,42 – 36,92



#### 4.5.1. Suelos sin salinidad

El porcentaje de emergencia de las plantas de *Raphanus sativus* L. “rabanito” 10 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. en un suelo sin salinidad ( $CE=1,58 \text{ dSm}^{-1}$ ) fue de 100% con *Bacillus* spp. y el testigo. La altura de las plantas de rabanito se incrementó con la inoculación de *Bacillus* spp. respecto al testigo (Tablas 7, 8, figuras 30 a 35), alcanzando índices de efectividad de 22,12% a los 15 días (*Bacillus* sp. 32); 34,78% a los 20 días (*Bacillus* sp. 21); 79,07% a los 25 días (*Bacillus* sp.21) y 133,98% a los 30 días (*Bacillus* sp. 21).

El número de hojas, peso de la biomasa aérea y peso de raíces de las plantas de rabanito se incrementó con la inoculación de *Bacillus* spp. respecto al testigo en un suelo sin salinidad (Tablas 9, 10, figuras 36 a 38), alcanzándose índices de efectividad de 42,11% (número de hojas); 65,96% (biomasa aérea) y 52,97% (peso raíces).

El análisis de varianza de los valores promedios de altura demostró alta significancia en los tratamientos (Anexo J). La prueba de comparaciones múltiples de Tukey demostró que los mayores valores en la altura correspondieron a *Bacillus* spp. 32 y 21 a los 15 días; *Bacillus* spp. a los 20 días; *Bacillus* spp. 21 y 27 a los 25 días y *Bacillus* sp. 21 a los 30 días (Tabla 11). Asimismo, el análisis de varianza de los valores promedios del número de hojas y peso de la biomasa aérea y radicular evidenció alta significancia (Anexo J). La prueba de comparaciones múltiples de Tukey demostró que los mayores valores en el número de hojas correspondieron a *Bacillus* spp. y en la biomasa aérea y peso de raíces a *Bacillus* sp. 21 (Tabla 12).

**Tabla 7**

*Altura de plantas de Raphanus sativus L. por efecto de Bacillus spp. en suelo sin salinidad*

Tratamientos	Altura (cm/días)*			
	15	20	25	30
Testigo	9,42±1,08	11,50±0,90	14,33±1,37	17,17±1,19
<i>Bacillus</i> sp. 21	11,43±1,24	15,50±1,45	25,67±2,90	40,17±2,25
<i>Bacillus</i> sp. 27	10,00±1,35	15,33±1,37	23,42±2,27	33,17±2,55
<i>Bacillus</i> sp. 32	11,50±0,90	14,67±1,23	21,16±1,40	35,67±2,23

\*Promedio de tres repeticiones

**Tabla 8**

*Índices de efectividad de Bacillus spp. en la altura de Raphanus sativus L. en suelo sin salinidad*

Tratamientos	IE* (%)/días			
	15	20	25	30
<i>Bacillus</i> sp. 21	21,38	34,78	79,07	133,98
<i>Bacillus</i> sp. 27	6,19	33,33	63,37	93,20
<i>Bacillus</i> sp. 32	22,12	27,54	47,62	107,77

\*Promedio de tres repeticiones

**Figura 30**

*Emergencia de semillas de Raphanus sativus L. en suelos sin salinidad, (a) Bacillus sp.27 (b) testigo absoluto.*

**Figura 31**

*Plantas de Raphanus sativus L., 15 días después de la inoculación de Bacillus sp. 21 en suelo sin salinidad.*



**Figura 32**

*Plantas de Raphanus sativus L., 20 días después de la inoculación de Bacillus spp. en suelo sin salinidad.*

**Figura 33**

*Plantas de Raphanus sativus L., 25 días después de la inoculación de Bacillus sp. 21 en suelo sin salinidad.*





**Figura 34**

*Plantas de Raphanus sativus L., 30 días después de la inoculación de Bacillus sp. 21 en suelo sin salinidad.*

**Figura 35**

*Plantas de Raphanus sativus L., 30 días después de la inoculación de Bacillus spp. en suelo sin salinidad.*



**Tabla 9**

*Índices de efectividad de Bacillus spp. en el número de hojas y peso de la biomasa aérea de Raphanus sativus L. en suelo sin salinidad*

Tratamientos	Hojas*		Biomasa aérea*	
	Nº	IE(%)	g	IE(%)
Testigo	6,33±1,78	-	15,67±1,30	-
<i>Bacillus</i> sp. 21	9,00±1,35	42,11	26,00±1,60	65,96
<i>Bacillus</i> sp. 27	8,17±0,94	28,95	22,08±2,71	40,96
<i>Bacillus</i> sp. 32	7,25±1,29	14,47	16,50±1,68	5,32

\*Promedio de tres repeticiones

**Tabla 10**

*Índices de efectividad de Bacillus spp. en el peso de raíces de Raphanus sativus L. en suelo sin salinidad*

Tratamientos	Raíces*	
	Peso (g)	IE(%)
Testigo	35,08±2,50	-
<i>Bacillus</i> sp. 21	53,67±2,53	52,97
<i>Bacillus</i> sp. 27	44,58±2,81	27,08
<i>Bacillus</i> sp. 32	46,42±2,64	32,30

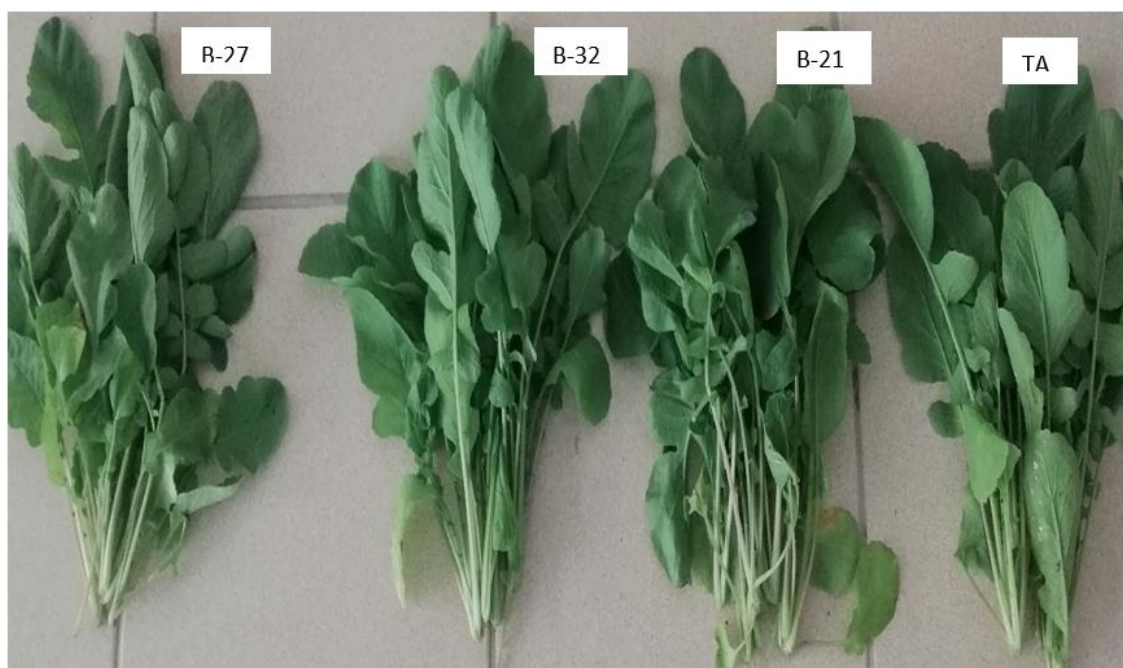
\*Promedio de tres repeticiones

**Figura 36**

*Plantas de Raphanus sativus L., 30 días después de la inoculación de Bacillus sp. 21.*

**Figura 37**

*Biomasa aérea de Raphanus sativus L., 30 días después de la inoculación de Bacillus spp.*



**Figura 38**

*Raíces de Raphanus sativus L., 30 días después de la inoculación de Bacillus sp. 27.*



**Tabla 11**

*Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los valores promedio de altura de Raphanus sativus L. a los 15, 20, 25 y 30 días después de la inoculación de Bacillus spp. en un suelo no salino*

Tratamientos	15 días		20 días		25 días		30 días	
	Altura (cm)	Sign.	Altura (cm)	Sign.	Altura (cm)	Sign.	Altura (cm)	Sign.
Testigo	9,41	b	11,50	b	14,33	c	17,16	d
<i>Bacillus</i> sp. 21	11,43	a	15,50	a	25,66	a	40,16	a
<i>Bacillus</i> sp. 27	10,00	b	15,33	a	23,41	a b	33,16	c
<i>Bacillus</i> sp. 32	11,50	a	14,66	a	21,16	b	35,66	b

**Tabla 12**

*Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los valores promedio del número de hojas, biomasa aérea y peso de raíces de Raphanus sativus L. 30 días después de la inoculación de Bacillus spp. en un suelo no salino*

Tratamientos	Nº de hojas	Sign.	Biomasa aérea	Sign.	Peso radicular	Sign.
Testigo	6,33	c	15,66	c	35,08	c
<i>Bacillus</i> sp. 21	9,00	a	26,00	a	53,66	a
<i>Bacillus</i> sp. 27	8,16	a b	22,08	b	44,58	b
<i>Bacillus</i> sp. 32	7,25	a b	16,50	c	46,41	b



#### 4.5.2. Suelos con salinidad

El porcentaje de emergencia de las plantas de *Raphanus sativus* L. “rabanito” 10 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. en un suelo con salinidad ( $CE=8,23 \text{ dSm}^{-1}$ ) fue de 100% con *Bacillus* spp. 21, 27 y 32 y 91,67% con el testigo (Tabla 13). La altura de las plantas de rabanito se incrementó con la inoculación de *Bacillus* spp. respecto al testigo (Tablas 14, 15, figuras 39 a 42), alcanzando índices de efectividad de 158,82% a los 15 días (*Bacillus* sp. 21); 96,51% a los 20 días (*Bacillus* sp. 21); 63,86% a los 25 días (*Bacillus* sp.21) y 96,62% a los 30 días (*Bacillus* sp. 21).

El número de hojas, peso de la biomasa aérea y peso de raíces de las plantas de rabanito se incrementó con la inoculación de *Bacillus* spp. respecto al testigo en un suelo con salinidad (Tablas 16, 17, figura 43), alcanzándose índices de efectividad de 53,03% (número de hojas); 60,75% (biomasa aérea) y 173,46% (peso raíces).

El análisis de varianza de los valores promedios de altura demostró alta significancia en los tratamientos (Anexo J). La prueba de comparaciones múltiples de Tukey demostró que los mayores valores en la altura correspondieron a *Bacillus* spp. 21 y 27 a los 15 días y *Bacillus* spp. a los 20, 25 y 30 días (Tabla 18). Asimismo, el análisis de varianza de los valores promedios del número de hojas, biomasa aérea y peso radicular evidenció alta significancia (Anexo J). La prueba de comparaciones múltiples de Tukey demostró que los mayores valores correspondieron a *Bacillus* spp. en el número de hojas y biomasa aérea y a *Bacillus* sp. 21 en el peso radicular (Tablas 19).

**Tabla 13**

*Emergencia de plántulas de Raphanus sativus L. por efecto de Bacillus spp. en suelo con salinidad*

Tratamientos	Emergencia de plántulas*	
	Nº	%
Testigo	3,67±0,47	91,67
<i>Bacillus</i> sp. 21	4,00	100,0
<i>Bacillus</i> sp. 27	4,00	100,0
<i>Bacillus</i> sp. 32	4,00	100,0

\*Promedio de tres repeticiones.

**Tabla 14**

*Altura de plantas de Raphanus sativus L. por efecto de Bacillus spp. en suelo con salinidad*

Tratamientos	Altura (cm/días)*			
	15	20	25	30
Testigo	4,25±0,67	7,17±1,12	10,38±0,84	12,33±1,51
<i>Bacillus</i> sp. 21	11,00±1,04	14,08±0,79	17,00±1,28	24,25±1,91
<i>Bacillus</i> sp. 27	10,08±1,31	12,42±1,38	15,17±1,34	22,83±2,76
<i>Bacillus</i> sp. 32	8,00±2,30	11,58±1,98	15,25±2,01	23,42±2,31

\*Promedio de tres repeticiones.

**Tabla 15**

*Índices de efectividad de Bacillus spp. en la altura de Raphanus sativus L. en suelo con salinidad*

Tratamientos	IE* (%)/días			
	15	20	25	30
<i>Bacillus</i> sp. 21	158,82	96,51	63,86	96,62
<i>Bacillus</i> sp. 27	137,25	73,26	46,18	85,14
<i>Bacillus</i> sp. 32	88,24	61,63	46,99	89,96

\*Promedio de tres repeticiones.

**Figura 39**

*Plantas de Raphanus sativus L., 15 días después de la inoculación de Bacillus sp. 21 en suelo con salinidad.*





**Figura 40**

*Plantas de Raphanus sativus L., 30 días después de la inoculación de Bacillus sp. 27 en suelo con salinidad.*

**Figura 41**

*Plantas de Raphanus sativus L., 30 días después de la inoculación de Bacillus sp. 21 en suelo con salinidad.*



**Figura 42**

*Plantas de Raphanus sativus L., 30 días después de la inoculación de Bacillus sp. 32 en suelo con salinidad.*

**Tabla 16**

*Índices de efectividad de Bacillus spp. en el número de hojas y peso de la biomasa aérea de Raphanus sativus L. en suelo con salinidad*

Tratamientos	Hojas*		Biomasa aérea*	
	Nº	IE(%)	g	IE(%)
Testigo	5,50±2,15	-	8,92±1,62	-
<i>Bacillus</i> sp. 21	7,58±1,51	37,88	14,33±1,50	60,75
<i>Bacillus</i> sp. 27	7,92±1,38	43,94	11,58±1,38	29,91
<i>Bacillus</i> sp. 32	8,42±1,00	53,03	10,67±1,61	19,63

\*Promedio de tres repeticiones.

**Tabla 17**

*Índices de efectividad de Bacillus spp. en el peso de raíces de Raphanus sativus L. en suelo con salinidad*

Tratamientos	Raíces*	
	Peso (g)	IE(%)
Testigo	13,50±1,19	-
<i>Bacillus</i> sp. 21	36,92±2,39	173,46
<i>Bacillus</i> sp. 27	26,17±2,76	93,83
<i>Bacillus</i> sp. 32	24,42±2,31	80,86

\*Promedio de tres repeticiones.

**Figura 43**

*Plantas de Raphanus sativus L., 30 días después de la inoculación de Bacillus sp. 21 en suelo con salinidad.*



**Tabla 18.**

*Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los valores promedio de altura de Raphanus sativus L. a los 15, 20, 25 y 30 días después de la inoculación de Bacillus spp. en un suelo salino*

Tratamientos	15 días		20 días		25 días		30 días	
	Altura (cm)	Sign.	Altura (cm)	Sign.	Altura (cm)	Sign.	Altura (cm)	Sign.
Testigo	4,25	c	7,16	b	10,37	b	12,30	b
<i>Bacillus</i> sp. 21	11,00	a	14,08	a	17,00	a	24,25	a
<i>Bacillus</i> sp. 27	10,08	a b	12,41	a	15,16	a	22,83	a
<i>Bacillus</i> sp. 32	8,00	b	11,58	a	15,25	a	23,41	a

**Tabla 19.**

*Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de los valores promedio del número de hojas, biomasa aérea y peso de raíces de Raphanus sativus L. 30 días después de la inoculación de Bacillus spp. en un suelo salino*

Tratamientos	Nº de hojas	Sign.	Biomasa aérea	Sign.	Peso radicular	Sign.
Testigo	5,50	b	8,91	b	13,50	c
<i>Bacillus</i> sp. 21	7,58	a b	14,33	a	36,91	a
<i>Bacillus</i> sp. 27	7,91	a b	11,58	a b	26,16	b
<i>Bacillus</i> sp. 32	8,41	a	10,66	a b	24,41	b

## V. DISCUSIÓN

Las especies de *Bacillus* son cosmopolitas (Kashyap et al., 2019). En estas bacterias, la arquitectura de la pared celular y su capacidad de esporulación favorecen la adaptación en los suelos salinos con un rango de CE de 44 a 326 dSm<sup>-1</sup> (Bull et al., 2018). Son aisladas del suelo rizosférico (Ngangom et al., 2019; Wahyudi et al., 2011;), de semillas (Xu et al., 2013) y agua (Singh y Jha, 2016).

Las especies de *Bacillus* son rizosféricas (Yildirim et al., 2008) y endófitas (Elsayed et al., 2017; Xu et al., 2013). En las plantas halófitas *Aster tripolium* desarrolladas en suelos con extrema salinidad antropogénica (CE=55 dSm<sup>-1</sup>) se investigaron las bacterias rizosféricas y endófitas y se determinó predominancia de las bacterias Gram positivas (91 y 73% respectivamente), entre los que destacaron *B. cereus*, *B. pumilus*, *B. simplex* y *B. mycoides* (Szymańska et al., 2016).

Las plantas en condiciones desfavorables como la salinidad incrementan la síntesis de etileno (Siddique et al., 2011), un regulador de la maduración de los frutos, senescencia y respuesta al estrés. La aceleración en la biosíntesis del etileno, produce el estrés por etileno, que afecta en forma negativa a las plantas (Saraf et al., 2010). Las bacterias con actividad ACC desaminasa regulan la producción de etileno, al hidrolizar el precursor ACC en  $\alpha$  cetobutirato y amonio (Glick et al., 2007) y de esta manera protegen a las plantas de la inundación (Sousa et al., 2018), sequía (Kumar et al., 2016), ataque de fitopatógenos (Ruíz et al., 2019) y salinidad del suelo (Singh y Jha, 2016).

El porcentaje (16,5%) de *Bacillus* spp. con actividad ACC desaminasa aisladas de la rizósfera de algarrobo fue superior a 6% registrado en bacterias aisladas de semillas de tomate (Xu et al., 2013). Este resultado puede ser atribuido a la elevada CE (23,68 dSm<sup>-1</sup>) del suelo, donde se encontraban los árboles de

algarrobo y en los que se colectaron las muestras de raíces con suelo rizosférico para el aislamiento de *Bacillus* spp.

Szymanske et al. (2016) detectaron el gen *acd S*, que codifica para la ACC desaminasa en el 13,64% de bacterias endófitas y rizosféricas aisladas de un suelo 1 ( $CE = 53 \text{ dSm}^{-1}$ ), en comparación con el 22,73% de bacterias endófitas y 20,83% de bacterias rizosféricas de un suelo 2 ( $CE = 112 \text{ dSm}^{-1}$ ), evidenciándose que el suelo con alta salinidad incrementa en las bacterias la necesidad de la actividad ACC desaminasa para disminuir el estrés causado por la salinidad las plantas.

La utilización del ACC como fuente de nitrógeno o actividad ACC desaminasa ha sido demostrada en *Bacillus* spp. (Baig et al., 2012) *B. circulans*, *B. firmus* y *B. globisporus* (Ghosh et al., 2003), *B. subtilis* (Barnawal et al., 2013), *B. thuringiensis* (Armada et al., 2016), *B. licheniformis* (Singh y Jha, 2016), *B. amyloliquefaciens* (Kumar et al., 2016), *B. velezensis* (Meng et al., 2016), *B. siamensis*, *B. methylotrophicus* (Amna et al., 2019) y *B. aryabhattai* (Ngangom et al., 2019).

Además de la actividad ACC desaminasa, las especies de *Bacillus* presentaron otras características que evidencian *in vitro* promoción de crecimiento en plantas como son la producción de indoles (Abeer et al., 2015; Xu et al., 2013) y solubilización de fosfatos (Xu et al., 2013). Las bacterias del género *Bacillus* también presentan actividad enzimática (Mohamed y Gomaa, 2012), producen sideróforos (Kumar et al., 2016), tienen actividad antifúngica (Minaxi et al., 2012; Wahyudi et al., 2011), fijan nitrógeno (Singh y Jha, 2016) e inducen resistencia sistémica, RSI (Castro et al, 2019; Kloepper et al., 2004).

El incremento de los parámetros del desarrollo de las plantas de rabanito por *Bacillus* spp. observada en suelos sin y con salinidad demostró la actividad promotora de crecimiento de estas bacterias, reportada previamente por Mohamed y Gomaa (2012) en rabanito con *B. subtilis*; Wahyudi et al. (2011) en soya con *Bacillus* sp.; Nautiyal et al. (2013) en arroz con *B. amyloliquefaciens*; Chen et al. (2016) en maíz con *B. amyloliquefaciens*; Khan et al. (2016) en arroz con *B. pumilus*; Singh y Jha (2016) en trigo con *B. licheniformis* y Amna et al. (2019) en trigo con *B. siamensis* y *B. methylotrophicus*.

La salinidad limita el desarrollo de las plantas por el efecto osmótico que disminuye la capacidad vegetal para absorber el agua del suelo, el efecto citotóxico por el exceso de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  y el desbalance nutricional por el nivel elevado de  $\text{Na}^+$  que compite con otros nutrientes e interfiere con los iones transportadores (Saraf et al., 2010). La salinidad afectó en forma negativa los parámetros del desarrollo de las plantas de rabanito, coincidiendo con las observaciones de Yildirim et al. (2008) y Mohamed y Gomaa (2012) en esta misma especie, así como también en arroz (Nautiyal et al., 2013), *Bassia indica* (Abeer et al., 2015) y trigo (Singh y Jha, 2016).

El desbalance nutricional en las plantas, ocasionado por la salinidad es disminuido por *Bacillus* spp., porque estas bacterias incrementan la absorción de nitrógeno, fósforo, potasio y calcio (Yildirim et al., 2008). Asimismo, la solubilización de fosfato por *Bacillus* spp. aumenta la disponibilidad de fósforo para las plantas (Baig et al., 2012) y la producción de indoles favorece la proliferación radicular (Albdaiwi et al., 2019) y por lo tanto una mayor absorción de nutrientes.

La salinidad afecta negativamente los parámetros fisiológicos de las plantas; sin embargo, las especies de *Bacillus* aumentan el contenido de lípidos totales, fracción de fosfolípidos, pigmentos fotosintéticos (clorofila, carotenoides), ácidos oleico, linoleico y linolénico (Aberr et al., 2015); acumulación de solutos compatibles como la glicina, betaina y su precursor colina (Zhang et al., 2010), clorofila total y prolina (Nautiyal et al., 2013), contenido de aminoácidos y proteína cruda (Mohamed y Gomaa, 2012); disminuyen la acumulación de  $\text{Na}^+$  e incrementan el contenido de  $\text{K}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$  (Sing y Jha, 2016), magnesio y nitrógeno (Elsayed et al., 2018). En las plantas inoculadas con bacterias con actividad ACC desaminasa el contenido foliar de clorofila aumenta como consecuencia de la mayor disponibilidad de nutrientes, que incluyen al magnesio. Asimismo, la proliferación radicular mejora la absorción de agua, con el consecuente aumento del número de hojas, superficie foliar y biomasa (Khan et al., 2016).

Yildirim et al. (2008) demostraron que los parámetros de las plantas de rabanito fueron afectados en forma negativa en un suelo con salinidad ( $\text{CE} = 10,21 \text{ dSm}^{-1}$ ); no obstante, la inoculación de las PGPR *Staphylococcus kloosii* EY37 y *Kocuria erythromyxa* EY43 incrementó en forma significativa el peso de la biomasa aérea (56,2 – 78,5%) y radicular fresca (52,2 – 100%), peso de la biomasa aérea

(97 – 108,1%) y radicular deshidratada (150,6 – 157,4%), número de hojas por planta (12,8 – 34,1%) contenido foliar de agua (20,6 – 37,0%), porcentaje de emergencia (14,1 – 17,2%) y el contenido de clorofila (21,2 – 24,9%), en comparación con el testigo sin bacterias. Asimismo, Mohamed y Gomaa (2012) reportaron que *B. subtilis* y *P. fluorescens* incrementaron significativamente la biomasa fresca y seca de las hojas y raíces, así como también los pigmentos fotosintéticos, proteína y prolina de las plantas de rabanito desarrolladas con 75 y 150 mM NaCl.

La disminución del estrés causado por la salinidad del suelo por *Bacillus* spp. con actividad ACC desaminasa se ha reportado en cultivos agrícolas como *Brassica campestris* “canola” (Ghosh et al., 2003), pimiento (Siddiquee et al., 2011), tomate (Ali et al., 2014; Xu et al., 2013), *Triticum aestivum* “trigo” (Orham, 2016). trigo (Singh y Jha, 2016) y *Cicer arietinum* “garbanzo” (Elsayed et al., 2017).



## VI. CONCLUSIONES

- 6.1** El género *Bacillus* se identificó en 109 cultivos de bacilos esporulados aislados de raíces y suelo rizósferico de *Prosopis limensis* Benth. “algarrobo” en la comunidad Campesina de San José, región Lambayeque.
- 6.2** El 16,5% de *Bacillus* spp. demostró actividad ACC desaminasa y todos estos bacilos presentaron tolerancia a 5,0; 7,5 y 10% de NaCl.
- 6.3** La inoculación de *Bacillus* spp. incrementó el porcentaje de germinación de las semillas de rabanito en comparación con el testigo NaCl. *Bacillus* spp. aumentó la tasa de germinación (4,10 - 13,33), superando inclusive al testigo absoluto.
- 6.4** Los cinco cultivos de *Bacillus* spp. con la mayor tasa de germinación de las semillas de rabanito produjeron indoles (48,24 – 66,13 ppm) y solubilizaron fosfato tricálcico (27,67 – 28,63 ppm) *in vitro*.
- 6.5** Las especies de *Bacillus* con actividad ACC desaminasa y tolerancia al NaCl incrementaron el desarrollo de las plantas de *Raphanus sativus* L. “rabanito” sin y con estrés salino, alcanzando índices de efectividad en la altura (46,18 – 158,82%), número de hojas (37,88 – 53,03%), en la biomasa aérea (19,63 – 60,75%) y biomasa radicular (80,86 – 173,46%) en el suelo con una CE de 8,23 dSm<sup>-1</sup>.

## VII. RECOMENDACIONES

- ✓ Identificar a nivel molecular *Bacillus* sp. 21, *Bacillus* sp. 27 y *Bacillus* sp. 32.
- ✓ Determinar el efecto de *Bacillus* sp. 21, *Bacillus* sp. 27 y *Bacillus* sp. 32 en el desarrollo de *Raphanus sativus* L. a nivel de campo comercial.
- ✓ Determinar el efecto de *Bacillus* sp. 21, *Bacillus* sp. 27 y *Bacillus* sp. 32 en el desarrollo de *Solanum lyopersicum* L. “tomate” y *Zea mays* L. “maíz” en condiciones de invernadero y campo.

## VIII. REFERENCIAS

- Abeer, H., Abdallah, E., Alqarawi, A., Al-Huqail, A., Alshalawi, S., Wirth, S., y Dilduza, E. (2015). Impact of plant growth promoting *Bacillus subtilis* on growth and physiological parameters of *Bassia indica* (Indian Bassia) grown under salt stress. *Pakistan Journal of Botany*, 47(5), 1735-1741. <https://s3.amazonaws.com/academia.edu>.
- Ahmad, M., Zahir, A., Asghar, N., y Asghar, M. (2011). Inducing salt tolerance in mung bean through coinoculation with rhizobia and plant-growth-promoting rhizobacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. *Canadian Journal of Microbiology*, 57(7), 578-589. <https://doi.org/10.1139/w11-044>
- Albdaiwi, R., Horani, H., Ayad, J., Alananbeh, K., y Sayaydeh, R. (2019). Isolation and Characterization of Halotolerant Plant Growth Promoting Rhizobacteria From Durum Wheat (*Triticum turgidum* subsp. *durum*) Cultivated in saline Areas of the dead Sea Region. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1-16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01639>
- Ali, S., Charles, T., y Glick, B. (2014). Amelioration of high salinity stress damage by plant growth-promoting bacterial endophytes that contain ACC deaminase. *Plant Physiology and Biochemistry*, 80, 160-167. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.04.003>
- Alvarado, P., y Valderrama, M. (2014). *Caracterización de los géneros, Burkholderia y Pseudomonas solubilizadoras de fosfato aisladas de Zea mays L. en el distrito de Reque en Lambayeque marzo – mayo 2014* [tesis de pregrado, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo]. Repositorio Institucional <http://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/UNPRG/795/BC-TES-3603.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Alvitres, V. (2000). *Método Científico. Planificación de la Investigación*. (2da. ed.). Editorial Ciencia.

- Angulo, V., Sanfuentes, E., Rodríguez, F., y Sossa, K. (2014). Caracterización de rizobacterias promotoras de crecimiento en plántulas de *Eucalyptus nitens*. *Revista Argentina de Microbiología*, 46 (4), 338 -347. [https://doi.org/10.1016/S0325-7541\(14\)70093-8](https://doi.org/10.1016/S0325-7541(14)70093-8)
- Amna, B., Sarfraz, S., Xia, Y., Kamran, M., Javed, M., Sultan, T., Munis, M., y Chaudhary, H. (2019). Mechanistic elucidation of germination potential and growth of wheat inoculated with exopolysaccharide and ACC-deaminase producing *Bacillus* strains under induced salinity stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 183, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109466>
- Armada, E., Probanza, A., Roldán, A., y Azcón, R. (2016). Native plant growth promoting bacteria *Bacillus thuringiensis* and mixed or individual mycorrhizal species improved drought tolerance and oxidative metabolism in *Lavandula dentata* plants. *Journal of Plant Physiology*, 192, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.11.007>
- Baig, K., Arshad, M., Shaharoon, B., Khalid, A., y Ahmed, I. (2012). Comparative effectiveness of *Bacillus* spp. possessing either dual or single growth-promoting traits for improving phosphorus uptake, growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Annals of Microbiology*, 62(3), 1109-1119. <https://doi.org/10.1007/s13213-011-0352-0>
- Barnawal, D., Maji, D., Bharti, N., Chanotiya, C., y Kalra, A. (2013). ACC deaminase-containing *Bacillus subtilis* reduces stress ethylene-induced damage and improves mycorrhizal colonization and rhizobial nodulation in *Trigonella foenum-graecum* under drought stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32 (4), 809-822. <https://doi.org/10.1007/s00344-013-9347-3>
- Barkla, B., Vera, R., Balderas, E., y Pantoja, O. (2017). Mecanismos de tolerancia a la salinidad en plantas. *Biotechnología*, 14, 263-272. [https://www.researchgate.net/profile/Omar\\_Pantoja/publication/237419076\\_Mecanismos\\_de\\_tolerancia\\_a\\_la\\_salinidad\\_en\\_plantas/links/0deec532bc8ca65bca000000/Mecanismos-de-tolerancia-a-la-salinidad-en-plantas.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Omar_Pantoja/publication/237419076_Mecanismos_de_tolerancia_a_la_salinidad_en_plantas/links/0deec532bc8ca65bca000000/Mecanismos-de-tolerancia-a-la-salinidad-en-plantas.pdf)
- Basurto, M., Núñez, A., Pérez, R., y Hernández, O. (2008). *Fisiología del estrés ambiental en plantas*. *Synthesis*, 48, 1-5.

- Bull, A., Idris, H., Sanderson, R., Asenjo, J., Andrews, B., y Goodfellow, M. (2018). High altitude, hyper-arid soils of the Central-Andes harbor mega-diverse communities of actinobacteria. *Extremophiles*, 22, 47-57. <https://doi.org/10.1007/s00792-017-0976-5>
- Calvay, A., y Santistebán, A. (2018). *Actinobacterias aisladas de raíces y suelo rizosférico de Portulaca oleracea L. como potenciales promotores del crecimiento de plantas en suelos salinos* [tesis de pregrado, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo]. Repositorio Institucional <http://repositorio.unprg.edu.pe/handle/UNPRG/3031>
- Castro, D., Inguanzo, L., del Monte, A., y Badía, M. (2019). Biological feasibility of the use of *Bacilli* strains producing indolacetic acid 3 in the *in vitro* growth of rice cultivation. *Revista Cubana de Ciencias Biológicas*, 7 (1), 10. <http://www.rccb.uh.cu/index.php/RCCB/article/view/252/336>
- Chang, P., Gerhardt, K., Huang, X., Yu, X., Glick, B., Gerwing, P., y Greenberg, B. (2014). Plant Growth-Promoting Bacteria facilitate the growth of barley and oats in salt-impacted soil: Implications for phytoremediation of saline soils, *International Journal of Phytoremediation*, 16(11), 1133-1147. <https://doi.org/10.1080/15226514.2013.821447>
- Chen, L., Liu, Y., Wu, G., Njeri, K., Shen, Q., Zhang, N., y Zhang, R. (2016). Induced maize salt tolerance by rhizosphere inoculation of *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9. *Physiologia Plantarum*, 158(1), 34-44. <https://doi.org/10.1111/ppl.12441>
- Contreras, H., y Carreño, C. (2018). Eficiencia de la biodegradación de hidrocarburos de petróleo por hongos filamentosos aislados de suelo contaminado. *Revista Científica Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 1(1), 27-33. <https://doi.org/10.25127/ucni.v1i1.269>
- Córdova, L. (2016). *Efecto de Azospirillum spp. nativas en el desarrollo vegetativo de Zea mays L. "maíz", en invernadero* [tesis de maestría, Universidad Nacional de Trujillo].
- Escobar, C., Horna, Y., Carreño, C., y Mendoza, G. (2011). Caracterización de cepas nativas de *Azotobacter* spp. y su efecto en el desarrollo de *Lycopersicum esculentum* Mill. "tomate" en Lambayeque. *Scientia Agropecuaria*, 2 (1), 39-49 <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2011.01.05>

- Esquivel, C., Gavilanes, R., Cruz, O., y Huante, P. (2013). Importancia agrobiotecnológica de la enzima ACC desaminasa en rizobacterias, una revisión. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(3), 251-258. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v36n3/v36n3a10.pdf>
- Elsayed, A., Abdulaziz, A., Abeer, H., Ramalingam, R., Asma, A., Fatma, N., Jahangir M., Raedah A., y Dillfuza, E. (2018). Endophytic bacterium *Bacillus subtilis* (BERA 71) improves salt tolerance in chickpea plants by regulating the plant defense mechanisms. *Journal of Plant Interactions*, 13 (1), 37-44. <https://doi.org/10.1080/17429145.2017.1414321>
- García, S., y Alvarez, P. (2012). Elección y evaluación de microorganismos solubilizadores de fosfatos en suelos calcáreos del Valle del Mantaro. Universidad Agraria La Molina. <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=tesispe.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=010654>
- García, F., y Muñoz, H. (2010). Caracterización de cepas nativas de *Azospirillum* spp. y su efecto como promotoras del desarrollo vegetativo de arroz (*Oryza sativa*) [tesis de pregrado, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo].
- García, F., Muñoz, H., Carreño, C., y Mendoza, G. (2010). Caracterización de cepas nativas de *Azospirillum* spp., y su efecto en el desarrollo de *Oryza sativa* L “arroz” en Lambayeque. *Scientia Agropecuaria*, 1, 107-116. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2010.02.01>
- García, R., Lovaisa, N., y Ulla, E. (2015). Aislamiento y caracterización de bacterias solubilizadoras de fosfatos del Noroeste Argentino y su efecto en la promoción de crecimiento en maíz (*Zea mays* L.). *Revista Agronomía Noroeste Argentino*, 35(1), 13-28. [https://www.researchgate.net/profile/Elsa\\_Ulla/publication/280921578\\_Aislamiento\\_y\\_caracterizacion\\_de\\_bacterias\\_solubilizadoras\\_de\\_fosfatos\\_del\\_Noroeste\\_Argentino\\_y\\_su\\_efecto\\_en\\_la\\_promocion\\_de\\_crecimiento\\_en\\_maiz\\_Zea\\_mays\\_L/links/55cb44fe08aeca747d6b3f91/Aislamiento-y-caracterizacion-de-bacterias-solubilizadoras-de-fosfatos-del-Noroeste-Argentino-y-su-efecto-en-la-promocion-de-crecimiento-en-maiz-Zea-mays-L.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Elsa_Ulla/publication/280921578_Aislamiento_y_caracterizacion_de_bacterias_solubilizadoras_de_fosfatos_del_Noroeste_Argentino_y_su_efecto_en_la_promocion_de_crecimiento_en_maiz_Zea_mays_L/links/55cb44fe08aeca747d6b3f91/Aislamiento-y-caracterizacion-de-bacterias-solubilizadoras-de-fosfatos-del-Noroeste-Argentino-y-su-efecto-en-la-promocion-de-crecimiento-en-maiz-Zea-mays-L.pdf)

- Glick, R., Penrose, M., y Li, J. (1998). A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *Journal of Theoretical Biology*, 190(1), 63-68. <https://doi.org/10.1006/jtbi.1997.0532>
- Glick, B., Todorovic, B., Czarny, J., Cheng, Z., Duan, J., y McConkey, B. (2007). Promotion of plant growth by bacterial ACC deaminase. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 26, 227-242. <https://doi.org/10.1080/07352680701572966>
- Gonzales, D. (2007). *Tolerancia al estrés salino del vinal (Prosopis ruscifolia): germinación, crecimiento y ajuste osmótico* [tesis doctoral, Universidad Nacional de Santiago del Estero]. [http://bcdigi.unse.edu.ar:8080/jspui/bitstream/123456789/20/1/0004-GraFCF2007\\_Gonzalez.pdf](http://bcdigi.unse.edu.ar:8080/jspui/bitstream/123456789/20/1/0004-GraFCF2007_Gonzalez.pdf)
- Grover, M., Ali, S., Sandhya, V., Rasul, A., y Venkateswarlu, B. (2011). Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stresses. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27, 1231-1240. <https://doi.org/10.1007/s11274-010-0572-7>
- Ghosh, S., Penterman, J., Little, R., Chavez, R., y Glick, B. (2003). Three newly isolated plant growth-promoting bacilli facilitate the seedling growth of canola, *Brassica campestris*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41(3), 277-281. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(03\)00019-6](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(03)00019-6)
- Hernández, R., Fernández, C., y Baptista, P. (2014). *Metodología de la Investigación (6ta ed.)*. Mc Graw, Hill Interamericana Editores S.A <https://s3.amazonaws.com>
- Instituto Nacional de Defensa Civil, INDECI. (2003). Proyecto INDECI-PNUD PER/02/051 Ciudades sostenibles: Mapa de Peligros de la Ciudad de San José. [http://bvpad.indeci.gob.pe/doc/estudios\\_CS/Region\\_lambayeque/65izosféric/sanjose\\_mp.pdf](http://bvpad.indeci.gob.pe/doc/estudios_CS/Region_lambayeque/65izosféric/sanjose_mp.pdf).
- Kashyap, B., Solanki, M., Pandey, A., Prabha, S., Kumar, P., y Kumari, B. (2019). *Bacillus* as plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): a promising green agriculture technology. In *Plant Health Under Biotic Stress*, 219-236. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-6040-4\\_11](https://doi.org/10.1007/978-981-13-6040-4_11)

- Khan, A., Zhao, X., Javed, M., Khan, K., Bano, A., Shen, R., y Masood, S. (2016). *Bacillus pumilus* enhances tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) to combined stresses of NaCl and high boron due to limited uptake of Na<sup>+</sup>. *Environmental and Experimental Botany*, 124, 120-129. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.12.011>
- Kloepper, J., Ryu, C., y Zhang, S. (2004). Induced Systemic Resistance and Promotion of Plant Growth by *Bacillus* spp. *The American Phytopathological Society*, 94 (11), 1259-1266. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.11.1259>
- Kumar, M., Mishra, S., Dixit, V., Kumar, M., Agarwal, L., Chauhan, P., y Nautiyal, C. (2016). Synergistic effect of *Pseudomonas putida* and *Bacillus amyloliquefaciens* ameliorates drought stress in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Plant Signaling y Behavior*, 11(1), 1-9. <https://doi.org/10.1080/15592324.2015.1071004>
- Lara, C., Esquivel, L., y Peñata, N. (2011). Native phosphate solubilizing bacteria to increase the crops in the department of Cordova-Colombia. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 9(2), 114-120. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S169235612011000200013&script=sci\\_arttext&lng=en](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S169235612011000200013&script=sci_arttext&lng=en)
- Luna, L., Martínez, R., Hernández, M., Arvizu, S., y Pacheco, J. (2013). Caracterización de rizobacterias aisladas de tomate y su efecto en el crecimiento de tomate y pimiento. *Revista Fitotecnológica Mexicana*, 36(1), 63-69. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v36n1/v36n1a7.pdf>
- Mantilla, M. (2007). Evaluación de la acción de un bioinoculante sobre un cultivo de crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* var. *yoko ono*) en periodo de enraizamiento [tesis de pregrado, Universidad Pontificia Javeriana].
- Meng, Q., Jiang, H., y Hao, J. (2016). Effects of *Bacillus velezensis* strain BAC03 in promoting plant growth. *Biological Control*, 98, 18-26. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.03.010>
- Mesa, D. (2003). Obtención de plantas resistentes a la salinidad para los suelos cubanos. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 37(3), 217-226. <https://www.redalyc.org/pdf/1930/193018048001.pdf>



- Minaxi, L., Yadav, R., y Saxena, J. (2012). Characterization of multifaceted *Bacillus* sp. RM-2 for its use as plant growth promoting bioinoculant for crops grown in semi arid deserts. *Applied Soil Ecology*, 59, 124-135. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.08.001>
- Mohamed, H., y Gomaa, E. (2012). Effect of plant growth promoting *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* on growth and pigment composition of radish plants (*Raphanus sativus*) under NaCl stress. *Photosynthetica*, 50(2), 263-272. <https://doi.org/10.1007/s11099-012-0032-8>
- Nautiyal, C., Srivastava, S., Chauhan, P., Seem, K., Mishra, A., y Sopory, S. (2013). Plant growth-promoting bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* NBRISN13 modulates gene expression profile of leaf and rhizosphere community in rice during salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 66, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.01.020>
- Ngangom, I., Nisha, M., Kumar, S., Ravindra, K., Tewari, L., y Sushmitha, S. (2019). Role of *Bacillus aryabhattai* in plant growth and development. *Agricultural Science Digest-A Research Journal*, 39(1), 46-50. <http://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:asd&volume=39&issue=1&article=009>
- Orhan, F. (2016). Alleviation of salt stress by halotolerant and halophilic plant growth promoting bacteria in wheat (*Triticum aestivum*). *Brazilian Journal of Microbiology*, 47, 621-627. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.04.001>
- Palacio, R., Ramos, B., Coria, J., Nava, R., y Sáenz, J. (2016). Mecanismos de las PGPR para mitigar el estrés abiótico de plantas. *Árido-Ciencia*, 1 (1), 4-11. <http://aridociencia.mx/numeros/2015/vin1/articulo2.pdf>
- Parra, L. (2012). *Efecto de distintos niveles de salinidad en especies halófilas en un saladar del sud de alicante* [tesis de pregrado, Universidad Politécnica de Valencia]. <http://hdl.handle.net/10251/17673>
- Penrose, D., y Glick, B. (2003). Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia Plantarum*, 118, 10-15. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2003.00086.x>

- Qin, S., Zhang, Y., Yuan, B., Yuan, P., Xing, K., Wang, J., y Jiang, J. (2014). Isolation of ACC deaminase-producing habitat-adapted symbiotic bacteria associated with halophyte *Limonium sinense* (Girard) Kuntze and evaluating their plant growthpromoting activity under salt stress. *Plant Soil*, 374, 753-766. <https://doi.10.1007/s11104-013-1918-3>
- Ramírez, J. (2015). *Caracterización de bacterias con actividad de ACC desaminasa, como promotoras del crecimiento en Lactuca sativa L. (Lechuga) bajo estrés salino* [tesis de pregrado, Universidad de Guadalajara]. Repositorio Institucional <http://repositorio.cucba.udg.mx:8080/xmlui/handle/123456789/5990>
- Ríos, P., y Zúñiga, L. (2012). *Bacillus spp. aisladas de rizósfera de Lycopersicon esculentum Mill. "tomate" en Lambayeque y su potencial como promotoras del crecimiento de plantas* [tesis de pregrado, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo]
- Rodier, J., y Rodi, L. (2005). *Análisis de las aguas*. Edición Omega, S.A.
- Rodríguez, C. (2013). *Evaluación de microorganismos promotores de crecimiento vegetal en tomate (Solanum lycopersicum) variedad Santa Clara, aislados de residuos lignocelulósicos de higuera (Ricinus communis)* [tesis de pregrado, Universidad Católica de Manizales]
- Rueda, E., Villegas, J., Gerlach, L., Tarazón, M., Murillo, B., García, J., Troyo, E., y Preciado, P. (2009). Efecto de la inoculación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal sobre la germinación de *Salicornia bigelovii*. *Terra Latinoamericana*, 27(4), 345-354. <http://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v27n4/v27n4a9.pdf>
- Ruíz, M., Ornelas, J., Olivas, G., Acosta, C., Sepúlveda, D., Zamudio, P. Berlanga, M, Salas, O, Cambero, C., y Ríos, C. (2019). Efecto de cepas de *Bacillus* solas y en interacción con hongos fitopatógenos sobre el crecimiento vegetal y calidad del fruto de jitomate. *Revista Bio Ciencias*, 6(1), 17. <http://doi.org/10.15741/revbio.06.e541>
- Saavedra, G. (2017). *Manual de producción de lechuga*. Boletín INIA N°09. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Santiago, Chile. <http://www.inia.cl/wpcontent/uploads/ManualesdeProduccion/09%20Manual%20Lechuga.pdf>

- Saleem, M., Arshad, M., Hussain, S., y Bhatti, A. (2007). Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 34, 635-648. <https://doi.org/10.1007/s10295-007-0240-6>.
- Santamaría, J. (2013). *Evaluación de la salinidad de los suelos de la Comunidad Campesina San José – Lambayeque, tratados con vinaza, usando la técnica del prendimiento de esquejes de la especie Brachiaria mutica (Forssk) Staff. “gramalote” a nivel de bandejas* [tesis de pregrado, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo]
- Saraf, M., Jha, C., y Patel, D. (2010). The role of ACC deaminase producing PGPR in sustainable agriculture. *In Plant Growth and Health Promoting Bacteria*. Springer, 365-385. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-13612-2\\_16](https://doi.org/10.1007/978-3-642-13612-2_16)
- Saravanakumar, D., y Samiyappan, R. (2007). ACC deaminase from *Pseudomonas fluorescens* mediated saline resistance in groundnut (*Arachis hypogea*) plants. *Journal Aplicacion Microbiology*, 102, 1283-1292 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03179.x>
- Siddikee, M., Glick, B., Chauhan, S., Yim, W., y Sa, T. (2011). Enhancement of growth and salt tolerance of red pepper seedlings (*Capsicum annuum* L.) by regulating stress ethylene synthesis with halotolerant bacteria containing 1-aminocyclopropane-1- carboxylic acid deaminase activity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49, 427-34. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.01.015>
- Singh, R., y Jha, P. N. (2016). A halotolerant bacterium *Bacillus licheniformis* HSW-16 augments induced systemic tolerance to salt stress in wheat plant (*Triticum aestivum*). *Frontiers in Plant Science*, 7, 1890. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01890>
- Soca, R., Rojas, J., Willems, L., Ocola, C., Fernández, R., y Pérez, J. (2016). *Identificación de las tierras degradadas por la salinidad del suelo en los cultivos de caña de azúcar mediante imágenes de satélite*. *Revista de Investigación de Física*, 19(1). <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/fisica/article/view/13550/11963>

- Sousa, I., Nascente, A., de Filippi, M., de Souza, A., y Frasca, L. (2018). Microrganismos indutores de crecimiento en producción de biomasa de arroz irrigado por inundación. In *Embrapa Arroz e Feijão-Resumo em anais de congresso (ALICE)*. In: REUNIÃO CENTRO-OESTE DE CIÊNCIA DO SOLO, 5.; SIMPÓSIO DE NUTRIÇÃO DE PLANTAS NO CERRADO, 2., 2018, Goiânia. Uso eficiente de nutrientes e adubação de sistemas agrícolas: resumos. Goiânia: UFG, 2018.
- Szymańska, S., Płociniczak, T., Piotrowska, Z., Złoch, M., Ruppel, S., y Hryniewicz, K. (2016). Metabolic potential and community structure of endophytic and rhizosphere bacteria associated with the roots of the halophyte *Aster tripolium* L. *Microbiological Research*, 182, 68-79. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.09.007>
- Tejera, B., Rojas, M., y Heydrich, M. (2011). Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 42(3), 131-138. <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181222321004.pdf>
- Vásquez, A., Díaz, N., Vásquez, N., y Vásquez, V. (2012). *Metodología de la Investigación Científica*. Oficina de Impresiones y Publicaciones Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.
- Wahyudi, A., Astuti, R., Widyawati, A., Meryandini, A., y Nawangsih, A. (2011). Characterization of *Bacillus* sp. strains isolated from rhizosphere of soybean plants for their use as potential plant growth for promoting rhizobacteria. *Journal of Microbiology and Antimicrobials*, 3(2), 34-40. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20113166385>
- Wikipedia (2017). Distrito de San José. [https://es.wikipedia.org/wiki/Distrito\\_de\\_San\\_José](https://es.wikipedia.org/wiki/Distrito_de_San_José).
- Xu, M., Sheng, J., Chen, L., Men, Y., Gan, L., Guo, S., y Shen, L. (2013). Bacterial community compositions of tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.) seeds and plant growth promoting activity of ACC deaminase producing *Bacillus subtilis* (HYT-12-1) on tomato seedlings. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(3), 835-845. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1486-y>

- Yildirim, E., Turan, M., y Donmez, M. (2008). Mitigation of salt stress in radish (*Raphanus sativus* L.) by plant growth promoting rhizobacteria. *Roumanian Biotechnological Letters*, 13 (5), 3933-3943. <https://www.rombio.eu/rbl5vol13/8.pdf>
- Zhang, H., Murzello, C., Sun, Y., Kim, M., Xie, X., Jeter, R., Zak, J. Dowd, S., y Paré, P. (2010). Choline and osmotic-stress tolerance induced in *Arabidopsis* by the soil microbe *Bacillus subtilis* (GB03). *Molecular Plant-microbe Interactions*, 23(8), 1097-1104. <https://doi.org/10.1094/MPMI-23-8-1097>
- Zhou, N., Zhao, S., y Tian, Ch. (2017). Effect of halotolerant rhizobacteria isolated from halophytes on the growth of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) under salt stress. *FEMS Microbiology Letters*, 364(11), 1-8. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnx091d>

## **ANEXOS**

## Anexo A

### Cálculo de número de muestras para la obtención de *Bacillus* spp. con actividad ACC desaminasa

(Alvitres, 2000)

$$n = \frac{z^2 (p \times q)}{t^2}$$

$$n = \frac{(1,96)^2 (0,90 \times 0,10)}{0,8^2}$$

$$n = 54,02$$

Donde:

n = Tamaño de la muestra

Z = 1,96 ( $\alpha = 0,05$ ) valor estándar

p = prevalencia o presencia de *Bacillus* spp. con actividad ACC desaminasa

q = 1-p, ausencia (0.10)

T = error estimado (8%)



## Anexo B

### Medios de cultivo (en Alvarado y Valderrama, 2014)

#### a. Agar nutritivo (AN)

Componentes	gL <sup>-1</sup>
Peptona	5,0
Extracto de carne	3,0
Agar agar	15,0
Agua destilada csp	1000mL

#### b. Medio de cultivo National Botanical Research Institute, NBRIP

Componentes	gL <sup>-1</sup>
Glucosa	10,0
Ca <sub>3</sub> (PO <sub>2</sub> )	5,0
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,1
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0,25
KCl	0,2
MgCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	5,0
Agar Agar	15,0
Agua destilada	1000mL

Solución de antimicótico.

Disolver una cápsula de 150mg de Fluconazol en 10ml de alcohol al 95%. Agregar 2mL de solución de antibiótico por litro de medio de cultivo para tener 45mg de Fluconazol por litro.

**c. Caldo Tripticasa Soya suplementado con triptófano.**

Componentes	gL <sup>-1</sup>
Peptona de caseína	17g
Peptona de harina de Soya	3,0
D(+) glucosa (dextrosa)	2,5
Cloruro de sódio	5,0
Fosfato dipotásico	2,5
Triptófano	0,01
Agua destilada csp	1000

Disolver por calentamiento y ajustar a pH 7,3

### Anexo C

#### Cálculo del ACC desaminasa o ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) Preparación de la solución de ACC:

Disolver 0.1g de ACC en 2 mL de agua destilada para obtener una solución 0,5M

Fórmula:  $C_4H_7NO_2$

Masa molar: 101,1 g/mol

Calculo de la molaridad de la solución de ACC

$$X = 1000\text{ml} \times \frac{\text{g de soluto}}{\text{ml de disolucion}} \times \frac{1\text{mol}}{\text{masa molar del soluto g}}$$

$$X = 1000\text{ml} \times \frac{0,1\text{ g}}{2\text{ml}} \times \frac{1\text{mol}}{101,1\text{g}}$$

$$X = \frac{100}{202,2}$$

$$X = 0,5\text{ M}$$

¿Cuánto de esta solución 0,5M se requiere para que el medio mínimo Dworkin & Foster tenga 3,0 mM ACC?

$$1\text{M} = 1\text{ mol}$$

$$1\text{ mol} = 1000\text{ mM}$$

$$\text{Entonces: } 0,5\text{M} \times 1000 = 500\text{ mM}$$

$$C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2$$

$$500\text{mM} \cdot V1 = 3\text{mM} \cdot 1000\text{ mL}$$

$$V1 = \frac{3000}{500}$$

$$V1 = 6\text{ mL}$$

$$6\text{mL} \text{ ----- } 1000\text{mL}$$

$$2\text{mL} \text{ ----- } x$$

$$X=333,3$$

Para preparar el medio mínimo Dworkin & Foster con 3,0 mM ACC, los 2 mL de la solución ACC 0,5M llevarlos a 333,3 mL de medio de cultivo

## Anexo D

### Procedimiento para elaborar la curva de calibración para cuantificar indoles

#### a. Rectivos

- Reactivo de Salkowski (en García y Muñoz, 2010)

Componentes	g <sup>L</sup> <sup>-1</sup>
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentrado	150 mL
Agua destilada	250 mL
FeCl <sub>3</sub> 0,5M en Agua destilada	7,5 mL

Al momento de la preparación, verter el ácido sulfúrico concentrado en un balón con 250mL de agua destilada y simultáneamente enfriar con chorro de agua constante. Finalmente agregar el cloruro férrico al 0,5 M.

Utilizar 4mL del reactivo para 1mL de la muestra investigada.

#### b. Método colorimétrico de Salkowski para cuantificar indoles (en Mantilla, 2007)

##### b.1. Fundamento de la reacción de Salkowski

Mediante la reacción de Salkowski se detectan grupos indol presentes en el medio de cultivo y la concentración de indol es directamente proporcional a la intensidad de color rojo producido. A su vez, el cambio de color es el resultado de una reacción oxidativa con el ácido sulfúrico, donde por medio de una transaminación un grupo amino es sustituido por el cloro proveniente del FeCl<sub>3</sub>, originando un compuesto visible de color rosado a rojo en el caso del indolacético. Otras coloraciones indican la presencia de productos intermedios de la síntesis del ácido indolacético, que pueden ser generados a partir del triptófano.

##### b.2. Preparación de diluciones a partir de una solución madre de AIA

Para obtener una curva patrón de ácido indolacético, preparar una solución madre de 100ppm, para lo cual se pesan 10mg de ácido indolacético y se disuelven con unas gotas de NaOH en un matraz aforado a 100mL. A continuación, enrasar con agua bidestilada y agitar hasta homogenizar. Posteriormente se realizan las siguientes diluciones:

N° de tubo	Solución patrón (100 µgmL <sup>-1</sup> )	H <sub>2</sub> O bidestilada [µL]*	Concentración AIA (mgL <sup>-1</sup> )
1	0	1000	0
2	20	980	2
3	40	960	4
4	60	940	6
5	80	920	8
6	100	900	10
7	150	850	15
8	200	800	20
9	300	700	30
10	400	600	40
11	500	500	50
12	600	400	60

\*1000 µL = 1 mL

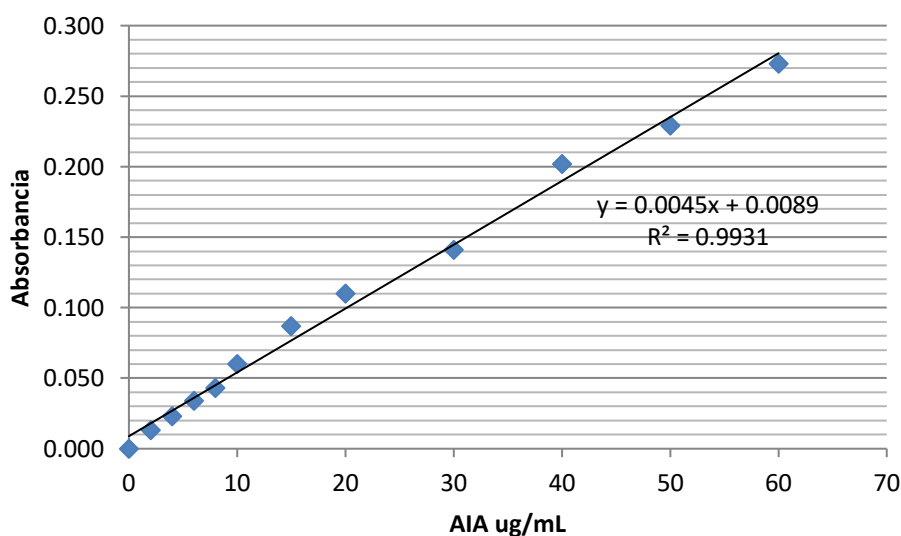
### b.3. Procedimiento para la cuantificación de AIA por colorimetría

Obtenidas las concentraciones parciales de AIA extraer de cada tubo 0,4mL de solución, verter en tubos de 13 x 75mm y agregar 1,6mL de reactivo de Salkowski (1:4). Dejar en reposo en oscuridad por 30 minutos. Observar la presencia de una coloración rojiza en los tubos. A continuación, leer la absorbancia de cada dilución en espectrofotómetro a 530nm.

Una vez obtenida la absorbancia en todas las concentraciones de ácido indolacético, corregir los valores y mediante regresión lineal en el programa Microsoft Excel 2007, obtener la ecuación de la recta y el coeficiente ( $R^2$ ) que deberá ser mayor a 0,9 para demostrar una dispersión homogénea de los valores sobre la recta.

N° de tubo	AIA (µg/mL)	Absorbancia
01	0	0,000
02	2	0,013
03	4	0,023
04	6	0,034
05	8	0,043
06	10	0,060
07	15	0,087
08	20	0,110
09	30	0,141
10	40	0,202
11	50	0,229
12	60	0,273

Obtenida la absorbancia de las doce concentraciones de ácido indol acético, introducir los datos en el programa Microsoft Office Excel 2007 y y construir la curva patrón de calibración:



En la ecuación obtenida:

$$y = 0,0045x + 0,0089$$

Donde:

y: representa la absorbancia captada (variable dependiente)

x: ácido indol acético en ppm (variable independiente)

Despejar "x" para obtener la cantidad de ácido indol acético (ppm) producido por cada bacteria nativa.

$$x = \frac{y - 0,0089}{0,0045}$$

## ANEXO E

### Cuantificación de fósforo solubilizado *in vitro*

#### a. Reactivos (Rodier y Rodi, 2005)

- Solución de ácido sulfúrico 5N
 

Ácido sulfúrico (d = 1,84)	14 mL
Agua destilada hasta enrase	100 mL
- Solución de molibdato amónico 4 %
 

	20 mL
--	-------
- Solución de ácido ascórbico
 

Ácido ascórbico	1,76 mL
Agua destilada hasta enrase	100 mL
- Solución de amético (Preparar al momento del uso)
 

Tartrato doble de antimonio y potasio	0,0274 g
Agua destilada hasta enrase	100 mL
- Reactivo para determinación de ortofosfatos
 

Ácido sulfúrico 5 N	40 mL
Solución de Molibdato amónico	12 mL
Solución de ácido ascórbico	24 mL
Solución de emético	4 mL
- Solución madre de 0,2 mgL<sup>-1</sup> de fósforo
 

Fosfato monopotásico previamente desecado en estufa a 100 °C	877 g
Agua destilada hasta enrase	100 mL
- Solución hija de 2mgL<sup>-1</sup> de fósforo
 

Diluir 1mL de solución madre en 99mL de agua destilada (1/100)	
---	--

#### b. Método colorimétrico del Molibdato para cuantificar fósforo soluble (Rodier y Rodi, 2005)

##### b.1. Fundamento

En medio ácido y en presencia de molibdato amónico, los ortofosfatos forman un complejo fosfomolibdico que, reducido por el ácido ascórbico, desarrolla



una coloración azul susceptible de una determinación colorimétrica y cuya aparición se acelera utilizando el catalizador emético, tartrato doble de antimonio y potasio.

### **b.2. Limpieza de los recipientes de vidrio**

Para la limpieza del material de vidrio no utilizar detergentes que contengan fosfato. Lavados con ácido clorhídrico diluido y enjuagados cuidadosamente con agua destilada.

### **b.3. Preparación de la curva de calibración**

Colocar en una serie de matraces aforados de 25 mL:

Número de matraces	T	I	II	III
Solución salina de fósforo de $2 \text{ mgL}^{-1}$	0	1	2	5
Agua bidestilada (mL)	20	19	18	15
Reactivo indicador (mL)	4	4	4	4
Agua destilada hasta enrase (mL)	25	25	25	25
Correspondencia de fósforo en $\text{mgL}^{-1}$	0	0,1	0,2	0,5

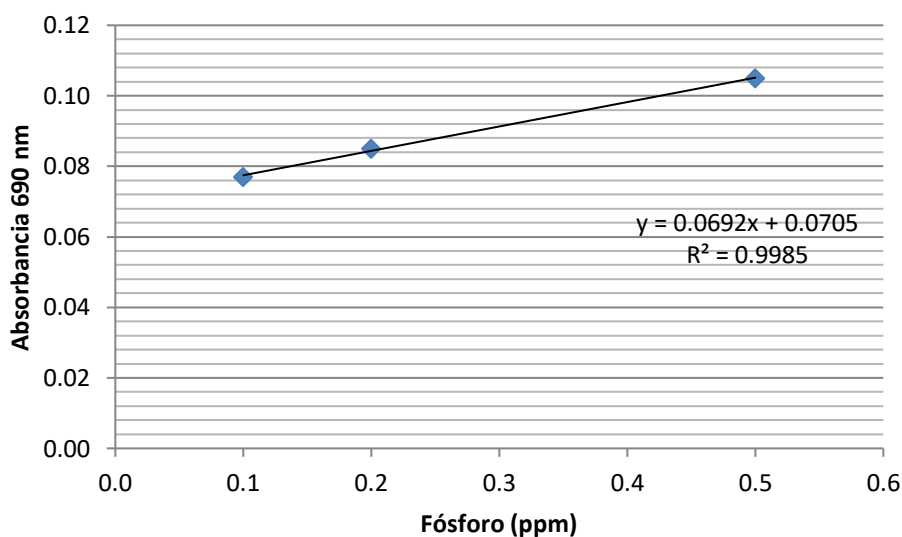
Esperar 20 minutos y efectuar las lecturas en el espectrofotómetro a la longitud de onda de 690nm en cubetas de 10cm. Construir la curva de calibración. Los datos de la absorbancia corregida se analizan mediante regresión lineal con el programa Microsoft Excel 2007 para obtener la ecuación de la recta y el coeficiente ( $R^2$ ) que deberá ser mayor a 0,9 para demostrar una dispersión homogénea de los valores sobre la recta.

### **b.4. Procedimiento para cuantificar fosfatos en la muestra**

Introducir 20mL de la muestra a analizar en un matraz aforado de 25mL. Añadir 4mL de reactivo indicador, completar el volumen a 25mL con agua destilada. Esperar 20 minutos y efectuar la lectura en el espectrofotómetro de luz visible con una longitud de onda de 690nm. Tener en cuenta el valor leído para el testigo. Obtener los resultados en la curva de calibración. Para una muestra de 20mL, la curva indica el contenido de fósforo expresado en miligramos por litro.

N° de tubo	Fósforo soluble (ppm)	Absorbancia
1	0,1	0,077
2	0,2	0,085
3	0,5	0,105

Una vez obtenida la absorbancia de las tres concentraciones de fosfato dicálcico, introducir los datos en el programa Microsoft Office Excel 2007 y construir la curva patrón de calibración:



En la ecuación obtenida:

$$y = 0,0692x + 0,071$$

Donde:

y: representa la absorbancia captada (variable dependiente)

x: cantidad de fósforo en ppm (variable independiente)

Despejar "x" para obtener la cantidad de fósforo (ppm) producido por cada bacteria nativa.

$$x = \frac{y - 0,071}{0,0692}$$

## Anexo F

Análisis fisicoquímico de suelo no salino procedente de Pucalá en Lambayeque, 2019

Clase textural	pH	CE (d Sm <sup>-1</sup> )	MO (%)	P (ppm)	K (ppm)	CaCO <sub>3</sub> (%)	CIC (meq/100g)	PSI (%)
FoAo	7,0	1,58	1,32	5,60	300	1,65	14,495	2,215

Análisis fisicoquímico de suelo salino procedente de Lambayeque, 2019

Clase textural	pH	CE (d Sm <sup>-1</sup> )	MO (%)	P (ppm)	K (ppm)	CaCO <sub>3</sub> (%)	CIC (meq/100g)	PSI (%)
FoAo	7,0	8,23	1,76	20,60	317	2,35	13,856	10,650

### Anexo G

Temperaturas registradas durante el cultivo de *Raphanus sativus* L.

Fechas	Temperatura mínima (°C)	Temperatura media (°C)	Temperatura máxima (°C)
1/11/2019	16	21	23
2/11/2019	15	19	22
3/11/2019	16	21	23
4/11/2019	16	18	20
5/11/2019	15	18	22
6/11/2019	15	18	22
7/11/2019	16	19	22
8/11/2019	16	21	23
9/11/2019	16	21	24
10/11/2019	16	21	23
11/11/2019	16	22	24
12/11/2019	16	21	23
13/11/2019	16	20	22
14/11/2019	16	20	22
15/11/2019	16	22	24
16/11/2019	18	21	24
17/11/2019	17	21	24
18/11/2019	17	19	20
19/11/2019	17	20	22
20/11/2019	17	21	23
21/11/2019	16	21	23
22/11/2019	16	20	21
23/11/2019	16	21	23
24/11/2019	17	22	24
25/11/2019	18	22	25
26/11/2019	17	21	24
27/11/2019	16	22	24
28/11/2019	16	18	22

<b>29/11/2019</b>	17	19	22
<b>30/11/2019</b>	16	20	23

---

### Anexo H

#### Cálculo de tasa de germinación de *Raphanus sativus* L. del testigo absoluto

TASA DE GERMINACIÓN/ DÍA			
Testigo absoluto	Promedio/Día	Promedio acumulado	M
3 días	6,00	6,00	2,00
6 días	10,00	16,00	2,67
9 días	9,00	25,00	2,78
12 días	8,00	33,00	2,75
			10,19

$$\begin{aligned}
 M &= n_1 / t_1 + n_2 / t_2 + n_3 / t_3 + n_4 / t_4 \\
 M &= 6/3 + 16/6 + 25/9 + 33/12 \\
 M &= 2,00 + 2,67 + 2,78 + 2,75 \\
 M &= 10,19
 \end{aligned}$$

## ANEXO I

Índices de solubilización de fosfato tricálcico por *Bacillus* spp.

<i>Bacillus</i> spp,	Diámetro (mm)		IS
	Halo	colonia	
27	5,6	3	2,87
21	5,0	2	3,50
32	2,5	1	3,50
42	4,5	2	3,25
16	3,5	2	2,75
24	2,1	1	3,10
14	5,8	3	2,93
13	4,3	3	2,43
4	2,3	2	2,15
1	1,2	1	2,20



## ANEXO J

Altura de *Raphanus sativus* L. 15 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. en un suelo sin salinidad.

### Pruebas de normalidad

	VARIABLE	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Altura 15 días	Testigo	,292	3	.	,923	3	,463
	<i>Bacillus</i> sp. 21	,359	3	.	,810	3	,138
	<i>Bacillus</i> sp. 27	,175	3	.	1,000	3	1,000
	<i>Bacillus</i> sp. 32	,175	3	.	1,000	3	1,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

### Prueba de homogeneidad de varianzas

Altura 15 días

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
,813	3	8	,522

### ANOVA

Altura 15 días

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	9,775	3	3,258	19,732	,000
Dentro de grupos	1,321	8	,165		
Total	11,096	11			

### Altura 15 días

HSD Tukey<sup>a</sup>

VARIABLE	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Testigo	3	9,417	
<i>Bacillus</i> sp. 27	3	10,000	
<i>Bacillus</i> sp. 21	3		11,430
<i>Bacillus</i> sp. 32	3		11,500
Sig.		,357	,996

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Altura de *Raphanus sativus* L. 20 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. en un suelo sin salinidad

#### Pruebas de normalidad

	VARIABLE	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Altura 20 días	Testigo	,175	3	.	1,000	3	1,000
	<i>Bacillus</i> sp. 21	,314	3	.	,893	3	,363
	<i>Bacillus</i> sp. 27	,385	3	.	,750	3	,000
	<i>Bacillus</i> sp. 32	,328	3	.	,871	3	,298

a. Corrección de significación de Lilliefors

#### Prueba de homogeneidad de varianzas

Altura 20 días

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
1,487	3	8	,290

#### ANOVA

Altura 20 días

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	31,417	3	10,472	29,569	,000
Dentro de grupos	2,833	8	,354		
Total	34,250	11			

#### Altura 20 días

HSD Tukey<sup>a</sup>

VARIABLE	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Testigo	3	11,500	
<i>Bacillus</i> sp. 32	3		14,667
<i>Bacillus</i> sp. 27	3		15,333
<i>Bacillus</i> sp. 21	3		15,500
Sig.		1,000	,376

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Altura de *Raphanus sativus* L. 25 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. en un suelo sin salinidad.

#### Pruebas de normalidad

	VARIABLE	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Altura 25 días	Testigo	,219	3	.	,987	3	,780
	<i>Bacillus</i> sp. 21	,292	3	.	,923	3	,463
	<i>Bacillus</i> sp. 27	,191	3	.	,997	3	,900
	<i>Bacillus</i> sp. 32	,279	3	.	,939	3	,523

a. Corrección de significación de Lilliefors

#### Prueba de homogeneidad de varianzas

Altura 25 días

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
,517	3	8	,682

#### ANOVA

Altura 25 días

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	216,015	3	72,005	66,421	,000
Dentro de grupos	8,673	8	1,084		
Total	224,687	11			

#### Altura 25 días

HSD Tukey<sup>a</sup>

VARIABLE	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Testigo	3	14,333		
<i>Bacillus</i> sp. 32	3		21,160	
<i>Bacillus</i> sp. 27	3		23,417	23,417
<i>Bacillus</i> sp. 21	3			25,667
Sig.		1,000	,108	,109

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Altura de *Raphanus sativus* L. 30 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. en un suelo sin salinidad.

#### Pruebas de normalidad

	VARIABLE	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Altura 30 días	Testigo	,385	3	.	,750	3	,000
	<i>Bacillus</i> sp. 21	,219	3	.	,987	3	,780
	<i>Bacillus</i> sp. 27	,328	3	.	,871	3	,298
	<i>Bacillus</i> sp. 32	,385	3	.	,750	3	,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

#### Prueba de homogeneidad de varianzas

Altura 30 días

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
3,951	3	8	,053

#### ANOVA

Altura 30 días

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	902,062	3	300,687	1110,231	,000
Dentro de grupos	2,167	8	,271		
Total	904,229	11			

#### Altura 30 días

HSD Tukey<sup>a</sup>

VARIABLE	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Testigo	3	17,167			
<i>Bacillus</i> sp. 27	3		33,167		
<i>Bacillus</i> sp. 32	3			35,667	
<i>Bacillus</i> sp. 21	3				40,167
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Número de hojas de *Raphanus sativus* L. 30 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. en un suelo sin salinidad.

#### Pruebas de normalidad

	VARIABLE	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Número de hojas	Testigo	,385	3	.	,750	3	,000
	<i>Bacillus</i> sp. 21	,343	3	.	,842	3	,220
	<i>Bacillus</i> sp. 27	,385	3	.	,750	3	,000
	<i>Bacillus</i> sp. 32	,314	3	.	,893	3	,363

a. Corrección de significación de Lilliefors

#### Prueba de homogeneidad de varianzas

Número de hojas

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
2,872	3	8	,104

#### ANOVA

Número de hojas

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	11,932	3	3,977	5,830	,021
Dentro de grupos	5,458	8	,682		
Total	17,391	11			

#### Número de hojas

HSD Tukey<sup>a</sup>

VARIABLE	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Testigo	3	6,333	
<i>Bacillus</i> sp. 32	3	7,250	7,250
<i>Bacillus</i> sp. 27	3	8,167	8,167
<i>Bacillus</i> sp. 21	3		9,000
Sig.		,099	,118

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Biomasa aérea de *Raphanus sativus* L. 30 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. en un suelo sin salinidad.

#### Pruebas de normalidad

	VARIABLE	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Biomasa aérea	Testigo	,292	3	.	,923	3	,463
	<i>Bacillus</i> sp. 21	,175	3	.	1,000	3	1,000
	<i>Bacillus</i> sp. 27	,340	3	.	,848	3	,235
	<i>Bacillus</i> sp. 32	,276	3	.	,942	3	,537

a. Corrección de significación de Lilliefors

#### Prueba de homogeneidad de varianzas

Biomasa aérea

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
6,132	3	8	,018

#### ANOVA

Biomasa aérea

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	214,057	3	71,352	53,936	,000
Dentro de grupos	10,583	8	1,323		
Total	224,641	11			

#### Biomasa aérea

HSD Tukey<sup>a</sup>

VARIABLE	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Testigo	3	15,667		
<i>Bacillus</i> sp. 32	3	16,500		
<i>Bacillus</i> sp. 27	3		22,083	
<i>Bacillus</i> sp. 21	3			26,000
Sig.		,812	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Peso de raíces de *Raphanus sativus* L. 30 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. en un suelo sin salinidad.

#### Pruebas de normalidad

	VARIABLE	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Peso de raíces	Testigo	,236	3	.	,977	3	,712
	<i>Bacillus</i> sp. 21	,253	3	.	,964	3	,637
	<i>Bacillus</i> sp. 27	,191	3	.	,997	3	,900
	<i>Bacillus</i> sp. 32	,187	3	.	,998	3	,915

a. Corrección de significación de Lilliefors

#### Prueba de homogeneidad de varianzas

Peso de raíces

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
1,012	3	8	,436

#### ANOVA

Peso de raíces

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	526,849	3	175,616	64,471	,000
Dentro de grupos	21,792	8	2,724		
Total	548,641	11			

#### Peso de raíces

HSD Tukey<sup>a</sup>

VARIABLE	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Testigo	3	35,083		
<i>Bacillus</i> sp. 27	3		44,583	
<i>Bacillus</i> sp. 32	3		46,417	
<i>Bacillus</i> sp. 21	3			53,667
Sig.		1,000	,554	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.



Altura de *Raphanus sativus* L. 15 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. en un suelo con salinidad.

#### Pruebas de normalidad

	VARIABLES	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Altura 15 días	Testigo	,276	3	.	,942	3	,537
	<i>Bacillus</i> sp. 21	,385	3	.	,750	3	,000
	<i>Bacillus</i> sp. 27	,385	3	.	,750	3	,000
	<i>Bacillus</i> sp. 32	,276	3	.	,942	3	,537

a. Corrección de significación de Lilliefors

#### Prueba de homogeneidad de varianzas

Altura 15 días

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
4,529	3	8	,039

#### ANOVA

Altura 15 días

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	80,875	3	26,958	25,249	,000
Dentro de grupos	8,542	8	1,068		
Total	89,417	11			

#### Altura 15 días

HSD Tukey<sup>a</sup>

VARIABLES	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Testigo	3	4,250		
<i>Bacillus</i> sp. 32	3		8,000	
<i>Bacillus</i> sp. 27	3		10,083	10,083
<i>Bacillus</i> sp. 21	3			11,000
Sig.		1,000	,140	,707

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Altura de *Raphanus sativus* L. 20 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. en un suelo con salinidad.

#### Pruebas de normalidad

	VARIABLES	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Altura 20 días	Testigo	,292	3	.	,923	3	,463
	<i>Bacillus</i> sp. 21	,385	3	.	,750	3	,000
	<i>Bacillus</i> sp. 27	,292	3	.	,923	3	,463
	<i>Bacillus</i> sp. 32	,253	3	.	,964	3	,637

a. Corrección de significación de Lilliefors

#### Prueba de homogeneidad de varianzas

Altura 20 días

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
3,276	3	8	,080

#### ANOVA

Altura 20 días

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	78,474	3	26,158	28,215	,000
Dentro de grupos	7,417	8	,927		
Total	85,891	11			

#### Altura 20 días

HSD Tukey<sup>a</sup>

VARIABLES	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Testigo	3	7,167	
<i>Bacillus</i> sp. 32	3		11,583
<i>Bacillus</i> sp. 27	3		12,417
<i>Bacillus</i> sp. 21	3		14,083
Sig.		1,000	,052

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Altura de *Raphanus sativus* L. 25 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. en un suelo con salinidad.

#### Pruebas de normalidad

	VARIABLES	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Altura 25 días	Testigo	,313	3	.	,894	3	,366
	<i>Bacillus</i> sp. 21	,175	3	.	1,000	3	1,000
	<i>Bacillus</i> sp. 27	,219	3	.	,987	3	,780
	<i>Bacillus</i> sp. 32	,175	3	.	1,000	3	1,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

#### Prueba de homogeneidad de varianzas

Altura 25 días

Estadístico de			
Levene	df1	df2	Sig.
2,351	3	8	,148

#### ANOVA

Altura 25 días

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	72,744	3	24,248	17,800	,001
Dentro de grupos	10,898	8	1,362		
Total	83,642	11			

#### Altura 25 días

HSD Tukey<sup>a</sup>

VARIABLES	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Testigo	3	10,377	
<i>Bacillus</i> sp. 27	3		15,167
<i>Bacillus</i> sp. 32	3		15,250
<i>Bacillus</i> sp. 21	3		17,000
Sig.		1,000	,291

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Altura de *Raphanus sativus* L. 30 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. en un suelo con salinidad.

#### Pruebas de normalidad

	VARIABLES	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Altura 30 días	Testigo	,204	3	.	,993	3	,843
	<i>Bacillus</i> sp. 21	,238	3	.	,976	3	,702
	<i>Bacillus</i> sp. 27	,253	3	.	,964	3	,637
	<i>Bacillus</i> sp. 32	,253	3	.	,964	3	,637

a. Corrección de significación de Lilliefors

#### Prueba de homogeneidad de varianzas

Altura 30 días

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
1,395	3	8	,313

#### ANOVA

Altura 30 días

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	283,604	3	94,535	42,909	,000
Dentro de grupos	17,625	8	2,203		
Total	301,229	11			

#### Altura 30 días

HSD Tukey<sup>a</sup>

VARIABLES	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Testigo	3	12,333	
<i>Bacillus</i> sp. 27	3		22,833
<i>Bacillus</i> sp. 32	3		23,417
<i>Bacillus</i> sp. 21	3		24,250
Sig.		1,000	,661

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Número de hojas de *Raphanus sativus* L. 30 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. en un suelo con salinidad.

#### Pruebas de normalidad

	VARIABLES	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	Gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Número de hojas	Testigo	,314	3	.	,893	3	,363
	<i>Bacillus</i> sp. 21	,328	3	.	,871	3	,298
	<i>Bacillus</i> sp. 27	,269	3	.	,949	3	,567
	<i>Bacillus</i> sp. 32	,253	3	.	,964	3	,637

a. Corrección de significación de Lilliefors

#### Prueba de homogeneidad de varianzas

Número de hojas

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
1,993	3	8	,194

#### ANOVA

Número de hojas

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	14,807	3	4,936	4,715	,035
Dentro de grupos	8,375	8	1,047		
Total	23,182	11			

#### Número de hojas

HSD Tukey<sup>a</sup>

VARIABLES	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Testigo	3	5,500	
<i>Bacillus</i> sp. 21	3	7,583	7,583
<i>Bacillus</i> sp. 27	3	7,917	7,917
<i>Bacillus</i> sp. 32	3		8,417
Sig.		,077	,755

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Biomasa aérea de *Raphanus sativus* L. 30 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. en un suelo con salinidad.

#### Pruebas de normalidad

	VARIABLES	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Biomasa aérea	Testigo	,368	3	.	,792	3	,094
	<i>Bacillus</i> sp. 21	,232	3	.	,980	3	,726
	<i>Bacillus</i> sp. 27	,232	3	.	,980	3	,726
	<i>Bacillus</i> sp. 32	,219	3	.	,987	3	,780

a. Corrección de significación de Lilliefors

#### Prueba de homogeneidad de varianzas

Biomasa aérea

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
4,145	3	8	,048

#### ANOVA

Biomasa aérea

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	46,021	3	15,340	6,947	,013
Dentro de grupos	17,667	8	2,208		
Total	63,688	11			

#### Biomasa aérea

HSD Tukey<sup>a</sup>

VARIABLES	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Testigo	3	8,917	
<i>Bacillus</i> sp. 32	3	10,667	10,667
<i>Bacillus</i> sp. 27	3	11,583	11,583
<i>Bacillus</i> sp. 21	3		14,333
Sig.		,203	,064

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Peso de raíces de *Raphanus sativus* L. 30 días después de la inoculación de *Bacillus* spp. en un suelo con salinidad.

#### Pruebas de normalidad

	VARIABLES	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Peso de raíces	Testigo	,325	3	.	,876	3	,312
	<i>Bacillus</i> sp. 21	,196	3	.	,996	3	,878
	<i>Bacillus</i> sp. 27	,196	3	.	,996	3	,878
	<i>Bacillus</i> sp. 32	,253	3	.	,964	3	,637

a. Corrección de significación de Lilliefors

#### Prueba de homogeneidad de varianzas

Peso de raíces

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
2,644	3	8	,121

#### ANOVA

Peso de raíces

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	827,125	3	275,708	77,054	,000
Dentro de grupos	28,625	8	3,578		
Total	855,750	11			

#### Peso de raíces

HSD Tukey<sup>a</sup>

VARIABLES	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Testigo	3	13,500		
<i>Bacillus</i> sp. 32	3		24,417	
<i>Bacillus</i> sp. 27	3		26,167	
<i>Bacillus</i> sp. 21	3			36,917
Sig.		1,000	,681	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.